

Г
652

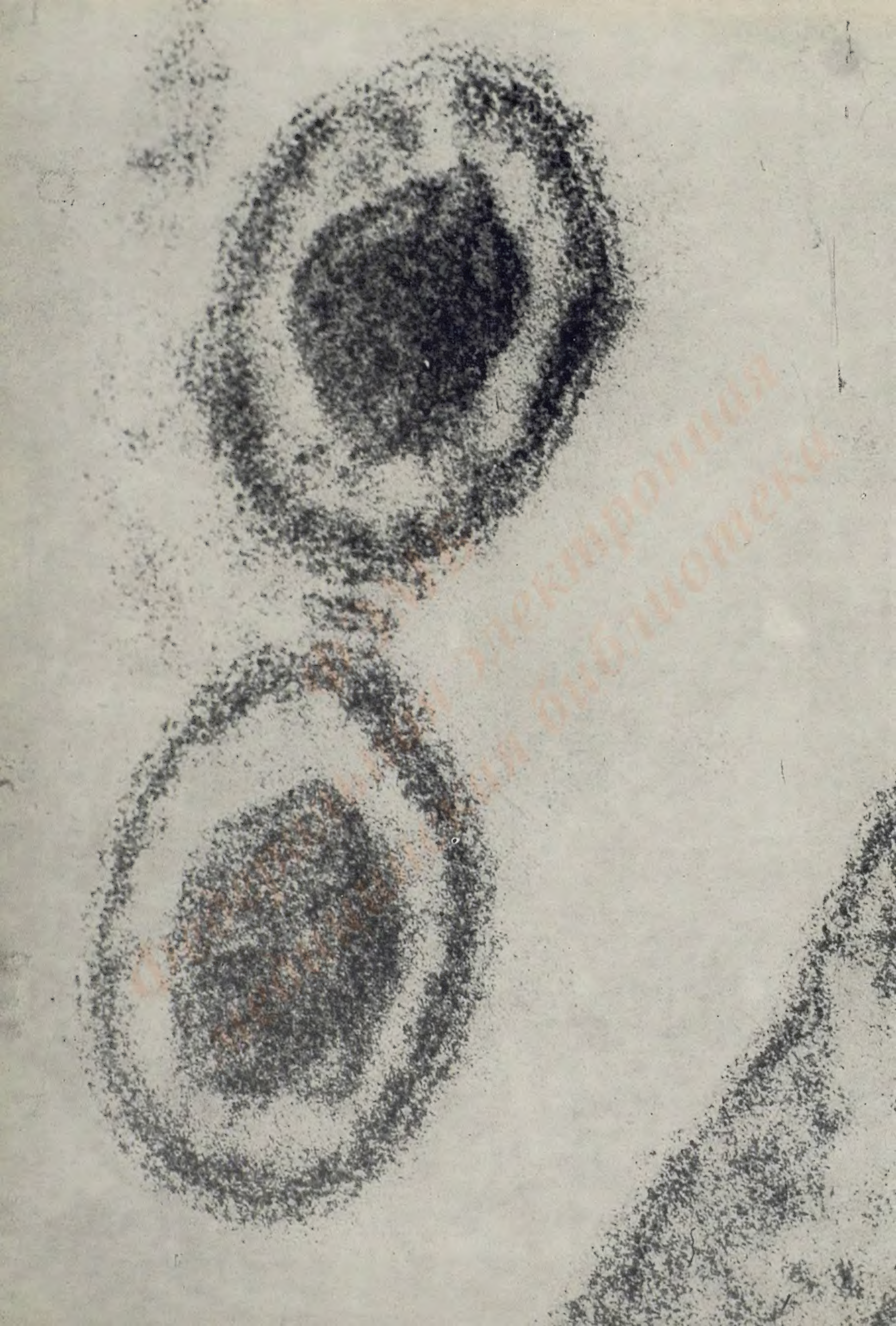
ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ



ОБЩЕСТВЕННАЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ
БИБЛИОТЕКА

ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

ФЭМБ
Федеральная электронная
медицинская библиотека



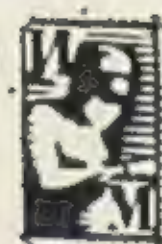
АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

А.Ф. БЫКОВСКИЙ
Н.В. КЛИЦУНОВА
Г.Г. МИЛЛЕР
В.Б. МАРТЫНЕНКО
Л.В. ГОРОХОВА

АТЛАС

Под редакцией профессора
А.Ф. БЫКОВСКОГО



МОСКВА • МЕДИЦИНА • 1983

ЧИТ

52.5
УДК 578.828(084.4)

7
652

Онкогенные вирусы (атлас)/Под ред. А. Ф. БЫКОВСКОГО; АМН СССР—
М.: Медицина, 1983, 224 с., ил.

Книга написана коллективом авторов, работающих в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР.

В книге обобщены данные литературы и результаты собственных двадцатилетних экспериментальных исследований структуры и внутриклеточного развития всех групп РНК- и ДНК-геномных онкогенных вирусов позвоночных (от рыб до человека включительно). Изложены классификация, история изучения и основные биологические свойства онкогенных вирусов. Наибольшее внимание уделено описанию РНК-геномных онкогенных вирусов (онковирусов типа А, В, С и D), представители которых являются основными возбудителями злокачественных новообразований. В отдельных главах атласа суммированы материалы по классификации, структуре и морфогенезу аномальных форм онкогенных РНК-геномных вирусов, а также по морфологической дифференциации онковирусов от других групп микроорганизмов и некоторых органоидов клеток эукариотов.

В атласе 650 оригинальных электронно-микроскопических фотографий и схем, иллюстрирующих принципы супрамолекулярной организации вирионов и основные этапы внутриклеточного развития онкогенных вирусов позвоночных. Библиография — 117 названий.

Атлас предназначен для вирусологов и онкологов.

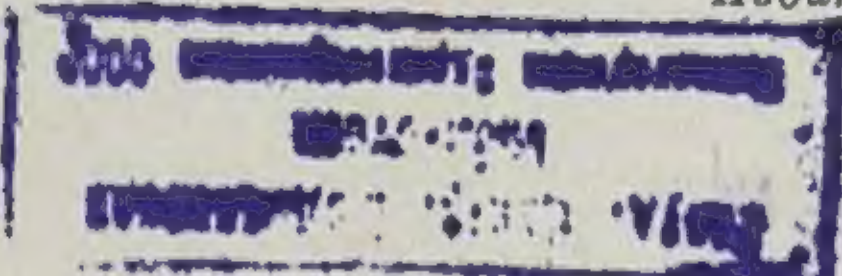
Oncogenic viruses (Atlas)/Ed. by A. PH. BYKOVSKY. M., Meditsina, 1983, 224 pp., ill.

Literary data and the results of twenty years experimental studies of the structure and intracellular development of all groups of RNA—and DNA—genome oncogenic viruses of vertebrates (from fishes to man including) are summarized in the book. Classification, the history of the study and main biological peculiarities of oncogenic viruses are presented. The most attention has been paid to the description of RNA-genome oncogenic viruses (oncoviruses of A, B, C and D types), the representatives of which are the main agents of malignant tumors in nature. In some chapters of the Atlas the materials on classification, structure and morphogenesis of abnormal forms are given, as well as morphological differentiation of oncoviruses from the other groups of microorganisms and some organoids of eukariotic cells.

There are more than 650 original electronmicroscopic photos and schemes, illustrating the principles of supramolecular organization of virions and basic steps of intracellular development of oncogenic viruses of vertebrates.

The Atlas is intended for virologists and oncologists, as well as for scientific workers and biologists of others specialists, physicians, teachers and students interested in the problems of oncovirology.

Рецензент: П. Н. Косяков, академик АМН СССР.



Издание одобрено и рекомендовано к печати
редакционно-издательским советом
Президиума АМН СССР

9/184 [signature]

4107000000—189
О 039(01)—83 2—82

© Издательство «Медицина» · Москва · 1983

ВВЕДЕНИЕ

«— О чем бы спросили Вы наших звездных братьев по разуму?

— Конечно или бесконечны пространство и время?...

Всюду ли смерть сопутствует жизни?...

Впрочем, нет, прежде всего я спросил бы о том, как победить рак...»

Артур Кларк

Мнение известного писателя-фантаста и ученого солидарно с результатами международной анкеты, распространенной более 10 лет тому назад среди населения США, Англии, Франции и ряда других стран. На вопрос: «Какое открытие явилось бы величайшим благом для человечества до конца XX века?» — от 80 до 90% опрошенных ответили: «Разрешение проблемы рака». Действительно, причины возникновения злокачественных опухолей, от которых ежегодно во всем мире умирает не менее 5 млн. человек, продолжают оставаться одной из важнейших проблем современной биологии и медицины.

Можно думать, что раковые заболевания сопровождают человека уже многие тысячелетия. Об этом, в частности, свидетельствует остеосаркома нижней челюсти, обнаруженная у одного из предков современного человека, жившего 500 000 лет тому назад. По-видимому, цивилизация должна достигнуть чрезвычайно высокого уровня развития, чтобы *Homo sapiens* в полной мере мог осознать, чем, как и почему он болеет. Применительно к злокачественным новообразованиям это означает, что человек уже достаточно давно не только знал об их существовании (древнейшее из известных нам подробных описаний раковых опухолей человека приведено в папирусе Эберса, написанном более 5500 лет тому назад), но и пытался бороться — хирургическое иссечение опухолей производили в Индии, по-видимому, еще за 15 веков до нашей эры [Чаклин А. В., 1976]. Однако основной вопрос — почему возникают злокачественные опухоли человека — остается нерешенным и в наши дни. Сложность этой

проблемы, очевидно, все еще превышает возможности человеческого интеллекта.

Тем не менее не вызывает сомнения, что и эта проблема будет решена, прежде всего благодаря прогрессу молекулярной биологии и онковирусологии — науки об онкогенных вирусах. Вся история развития онковирусологии насчитывает немногим более 70 лет, а история молекулярной онковирусологии — немногим более 10 лет. За этот короткий период было выделено более 150 вирусов, вызывающих опухоли у позвоночных (от рыб до млекопитающих включительно). В последнее десятилетие прогресс теоретической и экспериментальной биологии и вирусологии в определенной мере обусловлен достижениями онковирусологии. Исключительные успехи были достигнуты в изучении механизмов репродукции ДНК- и РНК-геномных онкогенных вирусов, структурной организации и функционирования их геномов, выяснении молекулярных механизмов взаимодействия онкогенных вирусов и клеток-мишеней. Были составлены полные генетические карты ДНК-геномных онковирусов — вирусов полиомы и SV 40. Обнаружение эндогенных РНК-геномных онковирусов ознаменовало новый этап в развитии вирусо-генетической теории происхождения опухолей, создателем которой является выдающийся советский ученый Л. А. Зильбер.

Лев Александрович Зильбер — вирусолог, микробиолог, иммунолог, академик АМН СССР (с 1945 г.), дважды лауреат (1946 и 1967 гг.) Государственной премии СССР, председатель Комитета по вирусологии рака Международного противоракового союза, почетный член Нью-Йорк-



Л. А. Зильбер

В. Бернар



ской Академии наук (1961), член Королевского медицинского общества Англии (1965) и общества им. Я. Пуркинье (ЧССР, с 1965 г.), окончил физико-математический факультет Петроградского (1915) и медицинский факультет Московского (1919) университетов; участвовал в ликвидации эпидемий брюшного тифа, чумы, холеры, оспы. В 1937 г. Л. А. Зильбер возглавлял Дальневосточную особую назначения Наркомздрава СССР экспедицию, которой удалось выделить новый вирус — возбудитель клещевого энцефалита.

Л. А. Зильбер — один из основоположников онковирусологии и иммунологии опухолей, им создана отечественная школа вирусологов. Л. А. Зильбером и его учениками были обнаружены специфические опухолевые антигены (1948, 1949), специфические вирусные антигены в опухолевых клетках (1952—1956), впервые доказана патогенность саркомы кур для неприродных хозяев — млекопитающих (1957), а также трансформирующая способность этого вируса для клеток человека *in vitro* (1964). После создания Л. А. Зильбером вирусно-генетической теории происхождения опухолей (1944—1961), все последующие гипотезы [Huebner, Todaro, 1969; Temin, 1971, и др.] включали в себя основное ее положение — интеграционное взаимодействие вирусного генома с геномом клетки — как безымянный постулат, не нуждающийся в доказательстве. Более того, в последние годы показано, что интеграция геномов достаточно широко распространена в природе и обмен генетической информацией в биосфере играет, по-видимому, существенную роль в эволюции.

Прогресс онковирусологии невозможен без обнаружения новых онкогенных вирусов, новых систем вирус — клетка. Электронная микроскопия позволяет обнаружить новый вирус и классифицировать его на уровне семейства, а иногда рода и даже подрода. Особое значение это имеет для онкогенных РНК-геномных вирусов и всего семейства Retroviridae, которые, как правило, не вызывают цитопатических изменений при персистенции в клетках эукариотов. Одним из основоположников изучения структуры онкогенных вирусов был французский ученый Bernhard, который более 20 лет тому назад выделил он-

когенные РНК-геномные вирусы типов А, В и С. Эта классификация используется и в настоящее время.

Вильгельм Бернар — выдающийся исследователь в области онковирусологии, цитологии и электронной микроскопии — родился в деревушке Ворбе недалеко от Берна. Окончил в 1947 г. Бернский университет. Организовал лабораторию электронной микроскопии в Институте раковых исследований в Париже, одним из первых получил ультратонкие срезы тканей с помощью ультратома собственной конструкции, впервые получил электронно-микроскопические изображения ряда онкогенных вирусов (вируса эритроblastоза и миелобlastоза птиц, вируса рака молочных желез мышей).

Лаборатория, руководимая им, многие годы была методическим центром по разработке и усовершенствованию электронно-микроскопических методов исследования. В ней был разработан успешно применяемый метод заключения тканей в гликольметакрилат, усовершенствованы методы электронно-микроскопической автордиографии высокого разрешения, криоультратомии, маркирования рецепторов клеточных мембран с помощью комплекса конканавалин — пероксидаза, визуализации ДНК в ультратонких срезах.

В. Бернар был президентом французского общества электронных микроскопистов (с 1963 г.), генеральным секретарем Международной федерации обществ электронных микроскопистов (1970—1974); членом Европейской организации по изучению биологии клетки.

Современная наука об онкогенных вирусах развивается чрезвычайно быстро, многие идеи и результаты экспериментальных исследований безнадежно устаревают еще до опубликования, актуальность научной статьи в среднем обычно сохраняется 3—4 года. Редкое счастье выпадает на долю исследователей, чьи идеи продолжают жить и после смерти их творцов — в книгах, учебниках, научных школах и даже в виде «безымянных» посту-

латов, входящих в последующие работы лауреатов Нобелевских премий. К подобным исследователям относятся акад. АМН СССР Л. А. Зильбер и проф. Bernhard, что и побудило авторов настоящего атласа посвятить свой скромный труд светлой памяти этих ученых, творчество которых не только живо, но и продолжает питать современную теоретическую и экспериментальную онковирусологию.

Атлас содержит более 650 электронно-микроскопических фотографий и схем, 95 % из них выполнены в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР. Отдельные фотографии любезно предоставили нам акад. АМН СССР О. Г. Анджапаридзе и Б. А. Лапин и их сотрудники; чл.-корр. АН СССР Н. А. Киселев, проф. Bowen, С. М. Клименко и их сотрудники. Препараты некоторых штаммов онкогенных вирусов были получены от акад. АМН СССР В. М. Жданова и сотрудников, акад. АН Латвийской ССР Р. А. Кукайн и ее сотрудников, проф. Н. П. Мазуренко, Heine и Todaro, И. Н. Крюковой и сотрудников, Schidlovsky, Dahlberg. Авторы атласа выражают искреннюю благодарность всем этим ученым, без любезной помощи которых книга была бы значительно менее полной.

В обсуждении отдельных теоретических вопросов классификации, структуры и морфогенеза онкогенных вирусов, изложенных в настоящей книге, принимали участие Bernhard, Dalton, Dmochowski, Heine, de Harven, Schidlovsky, А. Д. Альтштейн, за что мы всем глубоко признательны. Эти дискуссии были весьма полезны, несмотря на то что все их участники, как правило, оставались на своих прежних позициях.

Авторы сердечно благодарны сотрудникам отдела структуры и функции микроорганизмов Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР В. Н. Левину, В. М. Груничевой, В. В. Гостевой и З. Н. Зенченко за многолетнюю техническую помощь в работе.

I. КЛАССИФИКАЦИЯ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ

Вирусы позвоночных разделены Международным Комитетом по таксономии вирусов (ICTV) и его исполнительным комитетом (Гаага, август — сентябрь, 1978 г.) на 16 семейств. Онкогенные вирусы входят в состав 4 семейств ДНК-геномных вирусов и одного семейства вирусов — Retroviridae, вирионы которых содержат РНК.

Семейства вирусов позвоночных

ДНК-геномные вирусы	РНК-геномные вирусы
Iridoviridae	Picornaviridae
Poxviridae ¹	Reoviridae
Herpesviridae ¹	Togaviridae
Adenoviridae ¹	Bunyaviridae
Parvoviridae ¹	Rhabdoviridae
Parvoviridae ²	Orthomyxoviridae
	Paramyxoviridae
	Arenaviridae
	Coronaviridae
	Retroviridae ¹

¹ В состав этих семейств входят вирусы, вызывающие опухолевые заболевания.

² Онкогенные потенции вирусов этой группы предполагаются [Tattersall, Ward, 1978].

Семейство Retroviridae включает подсемейства Oncovirinae, Spumavirinae, Lentivirinae. Ретровирусы обладают уникальным свойством реплицироваться через ДНК-транскрипт с помощью ферментов комплекса обратной транскрипции (РНК-зависимой ДНК-полимеразы). РНК-онковирусы являются основными возбудителями опухолей у многочисленной группы животных (от рыб до приматов включительно).

В семействе Poxviridae выделено подсемейство вирусов оспы позвоночных Chordopoxvirinae, включающее роды Parapoxvirus, Suipoxvirus, Avipoxvirus, Capri-

roxvirus. Вирусы оспы двух последних родов наряду с инфекционными имеют представителей, вызывающих опухоли у животных.

Семейство Herpesviridae включает род Herpesvirus, куда входит значительное число онкогенных вирусов, вызывающих опухоли у различных животных (от земноводных до приматов включительно).

Семейство Adenoviridae подразделяется на два рода: Mastadenovirus (аденовирусы млекопитающих) и Aviadenovirus (аденовирусы птиц). Онкогенны многие представители аденовирусов млекопитающих.

Семейство Papovaviridae состоит из двух родов: Papillomavirus и Polyomavirus. Папилломавирусы вызывают образование папиллом у многих видов животных (от рыб до человека включительно); полиомавирусы обнаружены у грызунов и приматов (в том числе и человека).

За 70 лет развития онковирусологии исследователями всего мира описано и выделено около 200 опухолеродных вирусов. Число подобных работ особенно возросло в последнее десятилетие. Биологические свойства этих вирусов изучены неодинаково детально и достоверно. Это относится ко многим ретровирусам, прежде всего к ретровирусам, обнаруживаемым в опухолевых клетках человека. Вследствие этого мы считаем целесообразным дать классификацию основных вирусов позвоночных, которые по тем или иным биологическим свойствам можно отнести в одно из семейств ДНК- или РНК-геномных онкогенных вирусов.

Предлагаемая классификация ДНК- и РНК-содержащих вирусов составлена на основе классификации и номенклатуры вирусов, опубликованной Международным комитетом по таксономии вирусов в 1979 г. [Matthews, 1979], с включением некоторых новейших дополнений.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

Семейство *Retroviridae*

Вирусы фибромы белок, зайцев, кроликов
Вирус миксомы кроликов, белок
Вирус Яба обезьян
Вирус контагиозного моллюска человека

Семейство *Herpesviridae*

Вирус болезни Марека кур
Вирус герпеса лягушки, морских свинок, кроликов, телят, лошадей, беличьих обезьян, паукообразных обезьян, обезьян сеймири, павианов
Вирус Эпштейна—Барр человека
Цитомегаловирус тип 5 человека

Семейство *Adenoviridae*

Аденовирусы птиц (CELO)
Аденовирус коров тип 3
Аденовирус обезьян типы 1, 11, 20, 23, 25, 30, 33, 34, 37, 38, SA7
Аденовирус человека типы 1, 3, 5, 7, 7A, 8, 11, 12, 14, 16, 18, 21, 24, 31

Семейство *Paroviridae*

Вирус папилломы утря, крыс, хомяков, сусликов, опоссумов, кроликов, кошек, собак, свиней, овец, коз, сумчатых, оленей, лошадей, крупного рогатого скота, обезьян, человека
Вирус полиомы мышей, крыс
Вакуолизирующий вирус кроликов, обезьян

РНК-содержащие онкогенные вирусы

Семейство *Retroviridae*

Подсемейство *Oncovirinae*

РОД ОНКОВИРУС ТИПА С

Вирусы типа С моллюсков

Вирус лейкозоподобного заболевания устриц

Вирусы типа С рыб

Вирус лимфоцитоза Atlantic croaker
Вирус эпидермальной гиперплазии судака
Вирус спонтанной лимфомы щуки

Вирусы типа С рептилий

Вирус типа С миксофибромы гадюки
Вирус рабдомиосаркомы зерновой змеи
Вирус лейкоза удава

Вирусы типа С птиц

Вирусы саркомы Рауса (BCP) подгруппы А—D (всего 16 штаммов)
Вирусы лейкоза птиц (ВЛП) подгруппы А—Г (всего 19 штаммов)

Вирусы типа С млекопитающих

Экзотропные вирусы типа С
Экзогенные лейкозные вирусы
Экзогенные саркомные вирусы
Эндогенные вирусы лейкоза

Вирусы типа С мышей

Ксенотропные вирусы типа С мышей
Рекомбинанты эко- и ксенотропных вирусов
Амфотропные вирусы типа С мышей

Эндогенные вирусы типа С азиатских мышей

Вирусы типа С крыс

Эндогенный вирус типа С крыс

Вирусы типа С хомяков

Эндогенный вирус типа С хомяков

Вирусы типа С поросят

Эндогенный вирус типа С поросят

Вирусы типа С кошек

Экзогенные вирусы лейкоза кошек
Экзогенные вирусы саркомы кошек (подгруппы А—С)

Эндогенные ксенотропные вирусы типа С кошек

Вирусы типа С свиней

Вирусы типа С крупного рогатого скота

Вирус лейкоза крупного рогатого скота

Вирус типа С сумчатых

Вирусы типа С приматов

Экзогенный вирус саркомы шерстистых обезьян
Экзогенный вирус лимфомы гиббона
Эндогенный вирус типа С *Macaca arctoides*
Эндогенный вирус типа С полуночных обезьян
Эндогенный вирус типа С павианов и гелад
HTLV-онковирус типа С Т-клеточного лейкоза человека

РОД ОНКОВИРУС ТИПА В

Вирусы типа В мышей

Вирус рака молочных желез мышей

Вирусы типа В морских свинок

РОД ОНКОВИРУС ТИПА D

Вирус типа D сумчатых (?)

Вирус типа D обезьян

Вирус опухоли молочной железы обезьян (вирус Мезон—Пфайзера)
Эндогенный вирус типа D лангура
Эндогенный вирус типа D беличьих обезьян

Вирус типа D перевиваемых клеток свиньи

Вирус типа D перевиваемых клеток человека

Подсемейство *Lentivirinae*¹

Вирус висны овец и лошадей

Мади вирус овец

Подсемейство *Spumavirinae*¹

Бычий синцитиальный вирус

Пенящий вирус кошек, цыплят, кроликов, хомяков

Пенящий вирус обезьян

Пенящий вирус человека

Р-вирусы¹

Р-вирус хомяков, человека (?)

II. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ

История науки об онкогенных вирусах не написана. Эта тема требует специального исследования. В настоящей главе мы ограничимся кратким изложением доступных нам фактов по истории обнаружения, выделения и изучения основных групп вирусов, вызывающих опухоли у позвоночных.

Ученые Древнего мира и Средних веков считали опухоли чем-то совершенно отличным от организма, живущим собственной жизнью, т. е. своеобразными паразитами экзогенного (растительного или животного) происхождения, внедрившимися в организм человека [Подвысоцкий В. В., 1894]. Французский анатом Bichat в конце XVIII века первым высказал мысль о том, что опухоли состоят из тех же тканей, что и организм: «*toutes les tumeurs sont cellulaires*» («все опухоли клеточного происхождения»). В 30-х годах XIX столетия Müller впервые в раковой опухоли человека обнаружил эпителиальные клетки. С этого момента изучение проблемы рака переходит на клеточный уровень, возникает предположение: не являются ли известные в то время возбудители инфекционных заболеваний человека и животных (бактерии, простейшие и др.) агентами, под действием которых нормальные клетки организма превращаются в раковые клетки. Были выделены многочисленные штаммы разнообразных микроорганизмов. Например, в 1886 г. Scheuerlen с соавт. описали особые бактерии рака; при последующем изучении они оказались сапрофитами. В 1899 г. Н. Ф. Гамалея также предположил бактериальную этиологию злокачественных опухолей. Титаническая работа микробиологов была подытожена в 1910 г. в Париже на Международном конгрессе по борьбе с раковыми заболеваниями, когда исследователи окончательно признали, что бактерии, простейшие, гельминты не вызывают опухолевые заболевания у человека.

Значительно более плодотворными оказались предположения о значении вирусов в возникновении опухолей. Bogrel

(1903, 1908) и Bosc (1903) впервые высказали мысль о том, что рак вызывается агентами вирусной природы. Первое экспериментальное подтверждение этого положения получили Ellerman и Bang (1908) и Rous (1911), установившие вирусную природу лейкоза и саркомы кур. Идея о роли вирусов в происхождении рака была поддержана И. И. Мечниковым. В 1909 г. в Кембридже в речи, посвященной Дарвину, Мечников сказал: «Весьма вероятно..., что раковые заболевания человека также обязаны своим происхождением какому-нибудь вирусу, который усердно ищут, но еще не обнаружили».

Ellerman и Bang обнаружили, что лейкоз можно передать от больной курицы здоровой с помощью профильтрованных экстрактов лейкоцитов и сыворотки крови, однако эти работы не получили вначале должной оценки, поскольку в то время лейкозы не относили к неопластическим болезням. И даже открытие Рауса в 1911 г., многократно перевивавшего солидную опухоль кур бесклеточными филтратами и доказавшего, таким образом, существование вирусного агента, долгое время игнорировалось исследователями.

Однако открытие Рауса не было единственным, в 1913 г. он и его сотрудники описали фильтрующуюся ангиосаркому кур [Rous, Lange, 1913], а в 1914 г. — остеосаркому кур, передающуюся филтратом [Rous, Murphy, 1914].

Все попытки прямо обнаружить вирусы, вызывающие опухоли у млекопитающих, долго были безуспешными, а возможность получения опухолей у кур введением им различных химических веществ могла поколебать мнение о живой природе саркоматозного фильтрующегося вируса. Тем не менее в 1930—1931 гг. Н. Ф. Гамалея предполагал, что «...если клетки саркомы могут возникать в организме курицы или в тканевых культурах без внесения вируса, а под влиянием стерильных веществ..., то надо допустить, что саркоматозный вирус предсуществует

в здоровых клеточках в скрытом состоянии..., не проявляя своего присутствия..., не мешает их нормальной жизни и не имеет самостоятельного обмена веществ, т. к. не изменяет их ассимиляции». Таким образом, Н. Ф. Гамалея, по-видимому, первым предсказал существование эндогенных вирусов.

Только в 1932—1933 гг. впервые обнаружены вирусные опухоли у млекопитающих. Это открытие сделал Shope (1932, 1933). Первая такая опухоль представляла собой фиброму, вторая — папиллому диких кроликов. Было обнаружено, что после нескольких месяцев роста она перерождается в карциному, и это перерождение сопровождается исчезновением вируса. Однако вирусный антиген обнаруживается в карциноме при длительных пассажах.

Следующим важным этапом в изучении вирусного онкогенеза было обнаружение Bittner (1936) вируса рака молочных желез мышей и Gross (1951) вируса мышинной лейкемии, что открыло новую главу экспериментальной онкологии.

Большинство исследователей в то время поддерживали классические представления о роли опухолевых вирусов и считали их инфекционными агентами, побуждающими клетки к неограниченному и перегулируемому размножению. В основном это вполне соответствовало классической вирусной гипотезе, высказанной ранее Boggel, Bosc (1903). В противоположность этому Л. А. Зильбер в 1945 г. (1945а, 1945б) определил другое представление об опухолевых вирусах, согласно которому: 1) они последственно превращают нормальную клетку в опухолевую; 2) не играют роли в дальнейшем размножении уже возникших опухолевых клеток и 3) их действие принципиально отличается от инфекционного.

Механизм наследственных изменений, вызываемых опухолевыми вирусами, Л. А. Зильбер первоначально считал аналогичным феномену трансформации бактерий. Однако в дальнейшем, когда стало известно [Lwoff, 1953], что последственное вещество фага incorporates в геном бактерии, Л. А. Зильбер и другие исследователи полагали наиболее вероятным сходный механизм и для процесса превращения нормальной клетки в опухолевую. Дополнительная генетическая информация, привнесенная вирусом и интегрированная в геном клетки-хозяина, изменяет биосинтетические процессы в клетках, превращая их в опухолевые, размножение которых уже не может регулироваться организмом.

Важным этапом развития вирусно-генетической теории происхождения опухолей явились первые сообщения об онкогенности нуклеиновых кислот опухолеродных

вирусов [Di Mayorka et al., 1959; Ito, 1962], а также многочисленные факты, полученные при изучении взаимоотношений вируса Рауса и ДНК-содержащих вирусов с клетками млекопитающих. Положение о том, что вирус только трансформирует клетку, но не принимает участия в размножении уже трансформированных клеток, получило еще одно подтверждение. В соответствии с этим концепция Л. А. Зильбера в ее окончательном варианте была названа «вирусо-генетической» [Зильбер Л. А., 1961].

В 1957 г. Л. А. Зильбером и И. Н. Крюковой и одновременно Г. Я. Свет-Молдавским и А. С. Скориковой впервые была показана патогенность вируса Рауса для млекопитающих. Разные штаммы этого вируса отличаются друг от друга по способности вызывать опухоли (саркомы) у различных видов млекопитающих.

В 60-х годах первостепенное значение приобрели исследования дефектности вируса саркомы Рауса [Hanafusa et al., 1963, 1964, 1966]. Эти работы привели к открытию многочисленных вирусов-«помощников», роль которых сводится к внесению в клетку дополнительной генетической информации, необходимой для синтеза одного из белков оболочки вируса Рауса.

Первый вирус лейкемии мышей выделил Gross в 1951 г. при введении бесклеточных экстрактов лейкемических тканей мышей высоколейкозной линии AKR новорожденным мышатам низколейкозной линии. Сходные с вирусом AKR вирусы, вызывающие лимфолейкоз, впоследствии были выделены от мышей других высоколейкозных или низколейкозных линий. Все эти вирусы антигенно и по многим другим биологическим свойствам были близки вирусу AKR [Gross, 1970; Tooze, 1973].

Gross был первым и среди тех, кто доказал вирусную этиологию лейкозов, индуцированных облучением. Этот вирус был назван X-вирусом [Gross, 1970]. Впоследствии лейкозогенные вирусы были многократно выделены из тканей мышей с различными формами лейкозов, индуцированных облучением или химическими канцерогенами [Агеев А. И., 1969].

Биологические агенты оказались также способными активировать лейкемогенные вирусы мышей. Первое сообщение такого плана принадлежит Н. П. Мазуренко и Н. И. Нагорной (1957), которые индуцировали лейкоз у мышей низколейкозной линии CC57 после введения им осповакцины. У таких мышей развивались различные формы лейкозов (гемоцитобластоз, ретикулез и миелобластоз).

В 1957 г. Friend (1957) выделила вирус лейкемии мышей (FLV). Позднее из лабораторного штамма спонтанной адено-

карциномы молочной железы был выделен вирус (MLV), вызывающий диссеминированные лимфосаркомы или генерализованные лимфатические лейкемии у мышей самых разных линий [Moloney, 1960]. Несколько лет спустя Rauscher (1962) получил еще один ныне широко используемый штамм экспериментального вирусного лейкоза (вирус Раушера, RLV).

В 1964 г. Jarret с соавт. (1964) у кошек с лимфосаркомой впервые методом электронной микроскопии в тонких срезах обнаружили вирус типа С, который оказался, как было показано впоследствии, этнологическим фактором лейкоза кошек [Jarret et al., 1968; Rickard et al., 1969]. В настоящее время выделено и изучено множество штаммов вирусов лейкоза (лимфосаркомы) и фибросаркомы кошек.

В 1975 г. Chandra, Langhlin (1975) обнаружили в биоптатах опухоли молочных желез снежного леопарда вирионы, по морфологии и размерам сходные с РНК-содержащими опухолевыми вирусами.

Впервые вирусные частицы типа С в спонтанной миксофибrome гадюки (*Viper a russeli*) обнаружили Zeigel и Clark (1969), они же описали формирование вирионов онковируса в клеточной культуре из селезенки от гадюки с перикардальной метастазирующей опухолью. Селезеночная линия клеток от опухолисодержащих азиатских гадюк (*Pit viper*) содержит внутримитохондриальные вирионы типа А. Далее были описаны вирионы типа С онковируса, морфологически сходные с птичьими саркомно-лейкозными вирусами, в клетках рабдомиосаркомы зерновой змеи [Lunger et al., 1974; Lunger, Clark, 1974].

Онкогенные РНК-содержащие вирусы типа С крупного рогатого скота были впервые описаны в культурах лейкоцитов коров с лимфосаркомой [Miller et al., 1969]. Впоследствии вирусная природа лейкоза крупного рогатого скота была подтверждена [Кукайн Р. А. и др., 1973; Парфанович М. И. и др., 1975; Ferrer et al., 1972; Olson et al., 1972; Van der Maaten et al., 1974]. Была четко показана также возможность горизонтальной передачи бычьего лейкозного вируса (BLV) у телят и овец [McClure et al., 1974; Piper, 1975]. BLV — морфологически атипичный лейкомогенный вирус, экзогенный для крупного рогатого скота [Kettman et al., 1976].

В культуре лейкоэмической ткани собак методом электронной микроскопии был обнаружен морфологически типичный онковирус типа С [Chapman et al., 1967].

Вирус типа С, морфологически сходный с известными онковирусами, описан в 1969 г. Walker (1969) у судака (*Stizostedion vitreum*) Нью-Йоркского водоема в ассоциации с эпидермальными гиперплазиями. Позднее вирионы с полимеразной ак-

тивностью были обнаружены во фракциях с плавающей плотностью 1,15—1,17 г/мл при электронно-микроскопическом исследовании спонтанных лимфом у северной щуки (*Esox lucius*) [Papas et al., 1976].

В 1967 г. Opler впервые обнаружил онкогенный РНК-содержащий вирус, ассоциированный с перевиваемой лейкемией у гибридного штамма Хартли двух морских свинок. В настоящее время чаще используют для исследования природы лейкозов морских свинок L₂C лимфатическую лейкемию. Однако вопрос об этнологии лейкемии морских свинок остается невыясненным до сих пор [Rhim et al., 1977]. С этим заболеванием у данных животных ассоциирован также герпесоподобный вирус [Hsiung, Kaplov, 1969].

Вирусные частицы были обнаружены в лейкоэмических [Strandström et al., 1974] и нормальных клеточных линиях свиней [Armstrong et al., 1971]. Иммунологически выделенный вирус значительно ближе к типу С шерстистых обезьян (SSV-1), RD 114 и GALV, чем к классическим лейкозным вирусам кошек и мышей.

Вирус карциномы молочных желез мышей — MTV, он же «фактор молока», он же вирус Биттнера — назван по фамилии исследователя, обнаружившего его впервые в 1936 г. [Bittner, 1936].

Биологическая активность различных препаратов связана с типом В вирусных частиц [Bernhard, Bauer, 1955]. Вирионы MTV были впервые описаны в 1954 г. Dmochowski.

Из спонтанной лимфомы лошади выделили типичный онковирус типа С, а также вирус герпеса [Maruyama, 1970].

Онкогенные РНК-содержащие вирусы в настоящее время связывают с этнологией опухолей молочных желез обезьян. Первое сообщение об обнаружении встречающихся в природных условиях вирионов онковирусов обезьян появилось в 1970 г. Chopra и Mason (1970) методом электронной микроскопии в спонтанной опухоли молочных желез обезьяны *M. rhesus* обнаружили вирус, сходный с таковым опухолей молочных желез мышей. В дальнейшем вирус выделили также из нормальных молочных желез этих обезьян, плаценты и ткани эмбриона [Ahmed et al., 1974]. Было показано, что при определенных условиях под действием вируса развивается трансформация клеток крайней плоти макака резусов и человека [Fine et al., 1974].

Из спонтанной лимфосаркомы шерстистых обезьян Старого Света Theilen и др. (1971) выделили онкогенный вирус SSV-1 (simian sarcoma virus 1). Этот вирус вызывал опухоль у мартышек и трансформировал *in vitro* клетки разных видов млекопитающих, включая клетки обезьян и человека. Вирус постоянно продуцировал-

ся клетками в ассоциации с петрансформирующим вирусом, антигенно идентичным SSV-SSAV-1 (Simian sarcoma associated virus). В настоящее время описано несколько изолятов вирусов от больных гиббонов: это вирусы GALV-1, GALV-SEATO, GBr-1, GBr-2, GBr-3 [Kawakami et al., 1972; Todaro et al., 1975]. Эти изоляты очень близки или практически идентичны вирусу SSV-SSAV-1.

Онковирусы человека

Одним из труднейших вопросов современной онкологии является этиология неопластических заболеваний — опухолей и лейкозов человека.

Первые попытки обнаружить вирусоподобные частицы в опухолевых и лейкозных материалах от людей относятся к 50-м годам. Особенно интенсивно этот вопрос изучал Dmochowski (1965). Как правило, вирусоподобные частицы обнаруживали в срезах лимфатических узлов и плазме крови при различных формах лейкозов и никогда не находили в солидных опухолях [Almeida et al., 1963; Porter et al., 1964].

Вирусоподобные частицы, морфологически сходные с MMTV или M-PMV с плавающей плотностью 1,18—1,22 г/мл, 70S РНК и ревертазной активностью были обнаружены в молоке женщины из «высокоракковых» семей или в опухолях молочных желез [Dmochowski et al., 1967, 1969; Chopra, Feller, 1969, 1970, 1971; Moore et al., 1971; Seman et al., 1971]. Природа этих частиц в настоящее время интенсивно изучается главным образом методами молекулярной биологии. Получены данные об определенной гомологии между 70S РНК из вирусоподобных частиц с РНК или ДНК из MMTV и такими же препаратами из M-PMV [Colcher et al., 1974].

Особый интерес представляет обнаружение M-PMV-подобных вирусов в перевиваемых клетках нормальных и опухолевых тканей человека. В 1972 г. впервые было сообщено об обнаружении в перевиваемых клетках рака гортани человека (HEp-2) вируса типа D [Ильин К. В., Быковский А. Ф., Жданов В. М., 1972], затем сходных с ним вирусов в клетках HeLa [Быковский А. Ф. и др., 1973], Detroit-6 [Miller et al., 1974] и др. Эти вирусы морфологически были идентичны M-PMV и содержали общий с ними группоспецифический антиген.

В то же время О. Г. Анджапаридзе и соавт. сообщили о трансформирующем действии крови больных гемобластозом людей на диплоидные клетки легких эмбриона человека: этот вирус был назван лейкозоподобным (ЛПВ) и оказался морфологически сходным с онковирусом типа С [Анджапаридзе О. Г. и др., 1971].

Однако в дальнейшем в иммунологических тестах было обнаружено присутствие антигена, общего с антигенами вируса обезьян М-PMV, и показана продукция вируса, по морфологии сходного с онковирусами приматов типа D [Анджапаридзе О. Г. и др., 1975].

Методом электронной микроскопии было продемонстрировано присутствие онковируса типа С в перевиваемых лимфобластоидных клетках человека J-96 [Соловьев В. Д. и др., 1973], а в человеческой линии клеток, полученной из эмбриона от женщины с генерализованным раком шейки матки [Graffi et al., 1974], — присутствие онковируса типа D. Подобный вирус в перевиваемых раковых клетках HeLa описали Gelderbloom (1974) и Bauer с соавт. (1974).

Вирусные частицы типа С были обнаружены в культурах папиллярных раков почек [Elliot et al., 1973], в культуре перевиваемых клеток мозга [Hooks et al., 1972], в культурах лейкемических или меланомных клеток [Parsons et al., 1971] человека, а также в ткани первичной меланомы и ее метастазах в лимфатические узлы [Brikmayer et al., 1974]. Gallagher и Gallo (1975) показали присутствие онковируса типа С в культуре человеческой острой миелолейкемии. Teich с соавт. (1975) охарактеризовали этот вирус как выраженный тип С, способный хронически размножаться в широком спектре чувствительных клеток и по иммунологическим и биохимическим тестам близкородственный обезьяньему вирусу SSV, изолированному из фибросаркомы шерстных обезьян.

Boiron (1975), а затем Hall и Schidlovsky (1976) выделили онковирус типа С от пациента с миелогенной лейкемией. Эти изоляты были иммунологически сходны с вирусами лейкемии кошек и низших приматов. В это же время нидерландские ученые [Nooter et al., 1975] сообщили об изоляции инфекционного онковируса типа С из клеток костного мозга 4-летнего больного с лимфосаркомой. По морфологии представленный вирус соответствовал известным вирусам типа С млекопитающих. В 1976 г. появилась серия работ, выполненных различными методами, по выявлению вирусоподобных частиц в опухолевых тканях *in situ* или в клеточных культурах из опухолевых тканей. Прямым электронно-микроскопическим методом типичный вирус типа С был идентифицирован в клетках остеосаркомы [Dmochowski, 1976], в 9 из 32 биоптатов карциномы предстательной железы [Ohtsuki et al., 1976]. Биохимически и молекулярно-биологически онковирусоподобные частицы были обнаружены в малигнизированной меланоме людей, а также в биоптатах нормальной кожи [Parsons et al., 1976].

Впервые эта проблема возникла при изучении взаимодействия вирусов лейкозно-саркоматозного комплекса птиц с клетками эмбриональных тканей чистых линий кур. В первых работах Dougherty и Di Stefano (1966) и Payne и Chubb (1968) было показано, что в эмбриональных клетках ряда чистых линий «безлейкозных» кур иммунологически обнаруживается Гс-1 антиген птичьих лейкозных вирусов. Последующий прогресс определили в основном работы Vogt, Weiss, Hanafusa и их сотрудников.

Наиболее ранние работы по обнаружению эндогенных вирусов были выполнены на моделях клеток хомяков [Bernhard, Tournier, 1964], из которых выделены вирусоны, названные Н (или R), а также вирусоны типа С из трансплантируемых опухолей [Stenback et al., 1966], из опухолей, индуцированных химическими канцерогенами или вирусами полиомы и ОВ40 [Freeman et al., 1974], и изолированные из хомячковых опухолей, индуцированных мышинным саркомным вирусом [Kelloff et al., 1973], и вирусные частицы, ассоциированные с центриолями в клеточных линиях, полученных из яичников китайских хомячков [Wheatley, 1974]. Эти частицы были сферической формы, диаметром 55—64 нм. Они содержали сердцевину размером 35—40 нм, иногда плотную, а иногда с полостью. Позднее подобные частицы, но с детализацией их морфогенеза были описаны в клетках легкого китайского хомячка [Calafat, Hilkens, 1978]. Два типа вирусонов онковirusа (сходные с типом С и D) были обнаружены в перевиваемой культуре клеток сирийского хомячка, возникшей из спонтанно трансформированной хомячковой эмбриональной ткани [Дьяченко А. Г. и др., 1976].

В культуре ткани мозга от здорового хомячка наряду с вирусоном типа R выявлены частицы, по морфологии и локализации в клетке идентичные внутрицитоплазматическим и внутримитохондриальным вирусомам типа А [Быковский А. Ф., 1977].

Weiss (1969), по-видимому, первым обратил внимание на необычную продуктивную трансформацию дефектным по природе штаммом RSV определенных клеток чистых («безлейкозных») линий кур. Эти клетки продуцировали полный вирус Рауса, когда в них синтезировался Гс-антиген вируса лейкоза птиц (ALV). Позднее этот помогающий продукции RSV фактор был назван [Hanafusa, 1970] фактором chf (chick-cell associated helper factor). Этот фактор был интегрально связан с нормальной куриной клеткой некоторых

типов эмбрионов, следовательно, был эндогенным. Впоследствии Hanafusa с соотр. показали, что фактор chf обладает всеми свойствами онковirusа-«помощника» и назвали его RAV-60 (Раус-ассоциированный вирус) [Hanafusa et al., 1970].

Год спустя аналогичный вирус выделили Vogt и Friis (1970) при инфекции куриных клеток низкими дозами RSV. Они назвали его RAV-0. Далее было показано, что RAV могут быть индуцированы из нормальных куриных клеток также X-лучами, УФ-лучами, мутагенами или химическими канцерогенами [Weiss, Payne, 1971]. Впоследствии вирусы типа RAV-0 и RAV-60 были объединены в одну подгруппу вирусов лейкозно-саркоматозного комплекса птиц (подгруппа E) [Weiss, 1973].

Существование эндогенного вирусного гепатома было показано также у обыкновенных и золотистых фазанов. Изолированные из клеток вирусы были названы соответственно RAV-61 и вирус золотистых фазанов (GPV) [Hanafusa et al., 1973; Fujita et al., 1974]. Разные виды фазанов содержат, по-видимому, разные типы эндогенных онковirusов [Hanafusa et al., 1976].

Гомологичные последовательности РНК птичьих лейкозных вирусов (ALV) определены также в клетках перепелок [Neyman, 1973].

У птиц имеется еще одна группа РНК-содержащих онкогенных вирусов типа С — группа ретикулоэндотелиоза (REV).

Kang и Temin (1974) показали, что нуклеотидные последовательности РНК REV присутствуют в ДНК нормальных клеток кур, фазанов, перепелок и индюшек.

Первые работы, опубликованные практически одновременно советскими и американскими учеными, дали указания на возможность убиквитарного распространения лейкозных или близких им вирусов у мышей [Иевлева Е. С. и др., 1969; Abelev, Elgort, 1970; Huelner et al., 1970].

У мышей идентифицировано 3 класса эндогенных мышинных вирусов типа С [Stephenson et al., 1975]. Первые вирусы были изолированы из вируснегативного мышинного материала, а также из спонтанно или химически индуцированных трансформированных клеток [Aaronsen et al., 1971]. Они включали: 1) вирус, способный инфицировать NIH Swiss мышинные клетки (N-тропный) (экотропный), и 2) неспособный инфицировать мышинные клетки, но реплицирующийся в клетках разных других видов животных (например, крыс, кроликов); этот последний вирус был назван «xenotropic» [Levy, 1973]; 3) третий класс эндогенных вирусов мышей, также «xenotropic», индуцировал синтез полипептидов без освобождения

зрелого вируса [Stephenson et al., 1975]. Вирусы типа С, отличающиеся по спектру хозяев от вышеупомянутых эндогенных вирусов, были изолированы от BALB/c мышей и C57BL и названы В-тропными, так как они размножаются в клетках мышей BALB/c [Hartley et al., 1970].

В 1972 г. Bentvelzen с соавт. показали, что у мышей низкоракковых линий можно индуцировать опухоли молочных желез гормонами, химическими канцерогенами или Х-лучами. Оказалось, что все линии лабораторных мышей содержат эндогенную информацию онковируса типа В.

Позднее было показано [Callahan et al., 1976], что в геноме мышей *Mus cervicolor* содержится геном еще одного типа эндогенного вируса, морфологически сходного с типом В MMTV, но лишенного поверхностных отростков и содержащего центрально расположенный нуклеонид.

Внутрицистернальные частицы типа А были обнаружены методом электронной микроскопии в клетках многих первичных и трансплантируемых опухолей в различных перевиваемых культурах нормальных и опухолевых клеток лабораторных [Wivel, Smith, 1971], диких и домашних мышей [Gardner et al., 1971]. Частицы типа А были найдены в партеногенетически стимулированных яйцеклетках [Biczysko et al., 1973, 1974]. Наибольшее количество частиц типа А находили у зародыша на стадии 2—4 клеток; это связывают с клеточным делением после оплодотворения [Calagco, Szollosi, 1973]. Chase и Picó (1973) описали 4 морфологически различающихся типа вирионов в развивающемся мышном эмбрионе: 2 типа внутрицистернальных частиц А (мелкие, диаметром 75—80 нм, и крупные — 85—100 нм), частицы типа С и вирусоподобные частицы с плотным центром (диаметром до 50 нм). Частота обнаружения этих частиц зависела от стадии развития эмбриона. До настоящего времени не удалось выявить патогенность внутрицистернальных частиц А. На основании изучения структуры и биологических свойств внутрицистернальных частиц типа А можно считать их совершенно отдельным, *sui generis* типом эндогенных вирусов, имеющим также убиквитарное распространение не только у мышей, но и у крыс, кроликов, морских свинок, овец и человека (см. Minna et al., 1974).

Частицы, по морфологии сходные с онковирусами типа С, обнаружены в нормальных клеточных культурах крыс, а также в клетках из спонтанно трансформированных культур или в опухолях, индуцированных различными канцерогенными или онкогенными вирусами [Ting, 1968; Aaronson, 1971; Flugel et al., 1977].

В плаценте крыс линии Sprague — Dawley Gross и Schidlovsky (1975, 1976) обнару-

жили типичные вирионы типа С. Цистернальные частицы типа А обнаружены в плаценте, эмбриональных и зародышевых клетках [Anderson, Jeppesen, 1972; Hsiung et al., 1974; Black, 1974], в нормальных тканях взрослой морской свинки [Ma et al., 1969], а также в лейкемических тканях [Feldman, Gross, 1970].

Эндогенные ретровирусы морских свинок могут быть активированы из любой клеточной культуры (нормальной и лейкемической) с помощью BudR [Rhim et al., 1973]. Однако в последнее время Perk и Dahlberg (1979) показали, что только во время терминальной стадии лейкемического процесса клетки L₂C лейкемии морских свинок начинают спонтанно, без какой-либо индукции, продуцировать эндогенный вирус типа В/D.

Разные перевиваемые линии клеток свиней продуцируют характерные вирионы типа С [Breesc, 1970; Armstrong et al., 1971]. Наиболее изучен из них вирус перевиваемых почек свиней (PK-15); последовательности, гомологичные РНК этого вируса, содержатся в эмбриональной печени свиньи [Todaro et al., 1974]. В 1973 г. А. Д. Альштейн и сотр. обнаружили спонтанную продукцию онкорнавирусов типов А, С и D в перевиваемых клетках почки эмбриона свиньи (СПЭВ) и перевиваемых клетках почки поросенка. Вирус типа D имел характеристики, сходные с вирусом M-PMV, в то время как вирус типа С был эндогенным вирусом свиней.

Эндогенный вирус типа С алеутских пороков (*Mustela vison*) был изолирован в результате кокультивирования клеток павиана с перевиваемой линией эпителиальных клеток эмбрионального легкого порки, трансформированных вирусом саркомы крыс Кирстепа [Sherr et al., 1976]. Сходные эндогенные вирусные гены были найдены и в других видах рода *Mustela* [Sherr et al., 1978].

Из опухолевых клеток эмбрионов кошек, зараженных клетками рабдомиосаркомы человека (RD), был выделен вирус типа С, обладавший всеми характеристиками онковирусов (RD-114): 70S РНК, обратной транскриптазой, наличием р30 белка в нуклеониде и т. д. [McAllister et al., 1971; McAllister et al., 1972]. Однако этот вирус был отличен по групповому антигену и свойствам обратной транскриптазы от известного патогенного вируса лейкоза кошек (FeLV). В дальнейшем было показано, что вирус RD-114 не является ни вирусом лейкоза кошек, ни агентом рабдомиосаркомы человека. Последняя была лишь перmissive системой для его репликации. Вирус RD-114 не размножается в клетках природных хозяев. Таким образом, RD-114 является эндогенным ксенотропным вирусом кошек.

Год спустя идентичный вирус типа С был выделен из «безвирусных» перевиваемых клеток почек кошки (ССС) с помощью JduR [Fischinger et al., 1973]. Сходные вирусы выделяются при обработке BduR и JduR и даже спонтанно из эмбриональных диплоидных клеток кошек [Sarma et al., 1973].

Домашние кошки — пока единственный вид животных, у которых найдено 2 различных типа вирусов, представленных одной морфологической группой (типом С) — RD/ССС и FeLV-FeSV. Первые являются эндогенными, непатогенны для природных хозяев, передаются вертикально, вторые — патогенны, передаются горизонтально и являются экзогенными [Niman et al., 1977].

Однако следует особо отметить, что нуклеотидные последовательности, комплементарные ДНК вируса RD-114, были найдены в клеточной ДНК приматов Старого Света подсемейства cercopithecinae, а также у шимпанзе и гориллы, но не у человека. На основании этих данных делается предположительный вывод о том, что RD-114 является вирусом приматов, некогда (10—15 млн. лет тому назад) инфицировавшим предка современных домашних кошек [Benveniste, Todaro, 1974].

Имеется единичное сообщение об обнаружении методом электронной микроскопии вирусных частиц в карциноме молочной железы домашних кошек. Это внутрицистернальные частицы типа А [Bomhard et al., 1974], которые, по всей вероятности, являются другим представителем эндогенного вируса кошек.

Типичные вирионы типа С были обнаружены методом электронной микроскопии в плацентах и эмбриональной ткани обезьян макак резусов [Schidlovsky, Ahmed, 1973], а также в плаценте и преимплантационном эмбрионе павианов [Kalter et al., 1972, 1974]. Эти работы послужили началом интенсивных поисков эндогенных вирусов в плацентах приматов, что привело к выделению первого эндогенного вируса обезьян из плаценты павианов, названного M-7 [Benveniste et al., 1974]. По-видимому, сходный вирус, названный BiLN, был выделен от павиана, больного лейкозом [Лапин Б. А. и др.,

1973]. Имеется и второй морфологический тип эндогенных вирусов обезьян, описанный впервые в 1974 г. Ahmed с соавт. Морфологически он идентичен типу D вируса, сходному с M-PMV. Этот вирус обнаружен методом электронной микроскопии в плацентах макаки резуса (обезьяны Старого Света) и по антигенам отличается от M-PMV. В 1977 г. Smith с соавт. изолировали эндогенный онковиром типа D из плаценты обезьян Нового Света (белличьей обезьяны — *Saimiri sciureus*).

Эндогенный вирус изолирован от лагура (LV), также обезьяны Старого Света [Todaro, Benveniste, 1978].

Эндогенные онковироуы человека

До настоящего времени строгих доказательств наличия эндогенных вирусов у человека нет. Однако некоторые данные говорят в пользу существования такого эндогенного вируса. Онковироуы типа С были обнаружены методом электронной микроскопии в плацентах здоровых женщин [Kalter et al., 1973; Vernon et al., 1974, и др.] и больных системной красной волчанкой [Imamura et al., 1976; Dirksen, Levy, 1977]. Частицы со свойствами онковироуов (60—70S РНК, обратной транскриптазой, характерной плавучей плотностью 1,16—1,19 г/мл) были изолированы из клеток нормального женского молока [Furmanski et al., 1974].

На основании довольно многочисленных данных о сходстве некоторых последовательностей нуклеиновых кислот и ряда белков эндогенных вирусов типа С группы RD-114 кошек и вируса M-7 высших приматов [Sherr et al., 1974; Strand, August, 1974] с белками из нормальных и злокачественных клеток человека Todaro предположил, что у людей присутствуют эндогенные вирусы типа С, по биохимическим и антигенным свойствам весьма похожие на другие эндогенные вирусы млекопитающих и в первую очередь приматов.

Краткие сведения по истории обнаружения ДНК-геномных онкогенных вирусов приведены в соответствующих главах атласа.

III. ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ И МОРФОГЕНЕЗА ОНКОГЕННЫХ РНК-ГЕНОМНЫХ ВИРУСОВ

Первые электронно-микроскопические изображения онкогенных вирусов были получены в конце 40-х годов нашего столетия [Claude et al., 1947; Porter, Thompson, 1949; Graff et al., 1949]. В 50-х годах вследствие улучшения разрешающей способности электронных микроскопов и совершенствования техники приготовления биологических препаратов для исследования удалось более достоверно морфологически идентифицировать некоторые из описанных ранее «вирусоподобных» частиц как вирусные агенты, ответственные за те или иные опухолевые заболевания животных [Williams, 1953; Kinoshita et al., 1953; Dmochowski et al., 1953, 1954; Bernhard et al., 1955].

Bernhard, Guerin [Bernhard, 1958, 1960; Bernhard, Guerin, 1958] впервые выделили типы А, В и С онкогенных РНК-геномных вирусов и достаточно детально описали их субмикроскопическую организацию. По Bernhard, одни частицы типа А локализуются в цитоплазме различных опухолевых клеток мышей. На ультратонких срезах они состоят из двух концентрических слоев наружным диаметром 65—70 нм и внутренним — 50 нм. Внутренний слой имеет более высокую электронно-оптическую плотность. Центральная зона частиц обычно прозрачна, но иногда содержит аморфный материал. Подобные частицы типа А образуют большие скопления (состоят из сотен частиц) вблизи комплекса Гольджи или ядер клеток опухолей молочных желез мышей, а также некоторых других опухолей этих животных, например, лимфом и тимом. Другие частицы типа А имели несколько большие размеры (100 нм) и почковались от внутренней поверхности цистерн эндоплазматического ретикулума. Частицы типа С диаметром 90—100 нм локализовались исключительно внеклеточно или во внутриклеточных вакуолях и характеризовались центральным расположением плотного нуклеоида. В частицах типа В нуклеонды были окружены оболочками и располагались эксцентрично.

Следующим этапом в классификации онкогенных РНК-геномных вирусов явилась рекомендация группы ведущих специалистов [Dalton et al., 1966] разделить семейство онкогенных РНК-содержащих вирусов по морфологии на 6 групп: 1) внутрицитоплазматические частицы типа А диаметром 70 нм, с относительно электронно-прозрачным центром, диаметром 50 нм, развивающиеся в гиалоплазме; 2) внутрицистернальные частицы типа А диаметром 70 нм, с полупрозрачным центром диаметром 30 нм, почкующиеся от мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума внутри цистерн; 3) внеклеточные незрелые частицы типа В с электронно-прозрачным нуклеондом, состоящие из 4 слоев; 4) внеклеточные частицы типа В с эксцентрично расположенным электронно-оптически плотным нуклеондом; 5) внеклеточные незрелые частицы типа С с электронно-прозрачным нуклеондом, состоящим из 3 слоев; 6) внеклеточные зрелые частицы типа С с электронно-плотным нуклеондом.

Было постулировано, что незрелые частицы — промежуточная стадия в образовании зрелых частиц и термины «зрелые» и «незрелые» определяют не активность частиц, а их возраст со времени образования. Отметим, что de Harven остался при особом мнении и предпочитал называть «незрелую частицу» «одетой А-частицей». Последовательно проводя свою мысль о более четкой морфологической классификации онкогенных РНК-геномных вирусов, de Harven дополнил эту классификацию, выделив новый тип — «почкующиеся частицы» [de Harven, 1968].

В 1973 г. было предложено выделить группу онковирuсов типа D [Быковский А. Ф. и др., 1973, 1974; Bykovsky A. F. et al., 1974], которая первоначально включала онковирuс рака молочной железы обезьян — вирус Мэзон-Пфайзера [Chopra, Mason, 1970] и вирусы, выделенные из перевиваемых раковых клеток человека [Быковский А. Ф. и др., 1971; Ильин К. В., Быковский А. Ф., Спу-

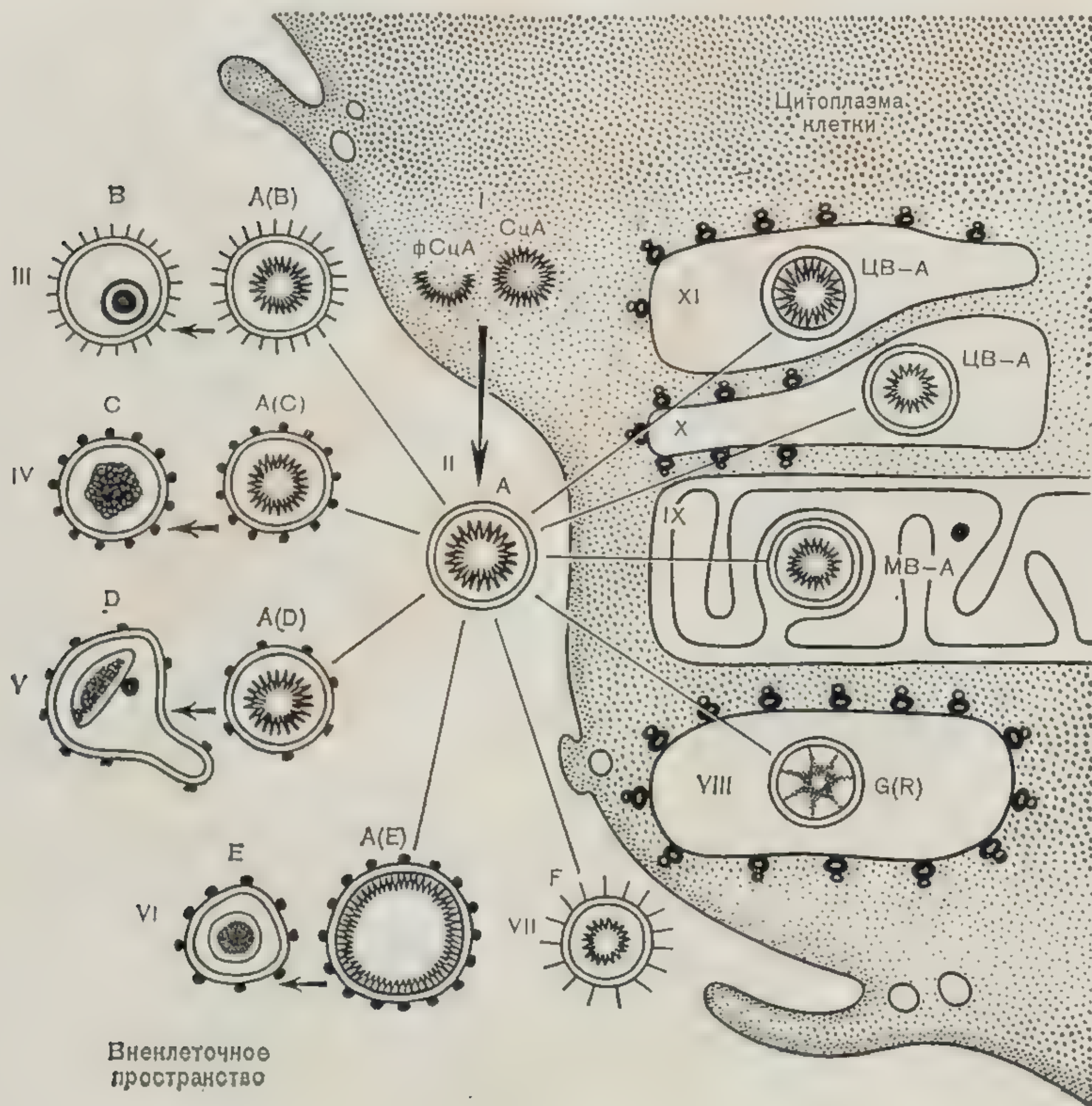
ре Ж. Ж., 1972; Ильин К. В., Быковский А. Ф., Жданов В. М., 1972]. Предложенная советскими исследователями классификация — выделение онковирусов типа D — была поддержана американскими учеными. Что касается онковирусов типа A, то в самостоятельный подрод выделили лишь часть этих вирусов — цистерनावирусы типа A [Dalton et al., 1974, 1975; Dalton et al., 1975].

Таким образом, согласно предложениям Международного комитета по таксономии вирусов (1975, 1978), в семействе Retroviridae выделяют следующие вирусы: цистерनावирусы (тип A), онкорнавирусы типа B, онкорнавирусы типа C, онкорнавирусы типа D, лентивирусы (тип E), спумавирусы (тип F). Морфологическая классификация всех известных в настоящее время ретровирусов представлена на рис. 1. Согласно этой классификации выделяют следующие морфологические формы ретровирусов: 1) внеклеточные онковирусы типа A (*sui generis*); 2) внеклеточные онковирусы типа A, ассоциированные с онковирусами типа B — A(B); 3) онковирусы типа B; 4) внеклеточные онковирусы типа A, ассоциированные с онковирусами типа C — A(C); 5) онковирусы типа C; 6) внеклеточные онковирусы типа A, ассоциированные с онковирусами типа D — A(D); 7) онковирусы типа D; 8) лентивирусы типа A, ассоцииро-

ванные с лентивирусами типа E — A(E); 9) лентивирусы типа E; 10) спумавирусы (тип F); 11) R-вирусы (тип C); 12) митохондриальные вирусы типа A (MB-A); 13) цистерनावирусы типа A (ЦВ-A); 14) цистерनावирусы типа A' (ЦВ-A').

Морфогенез онкогенных РНК-геномных вирусов

Инфекционные и онкогенные вирусы проходят в клетке сложный, строго специфичный для каждой группы вирусов онтогенетический цикл развития. Морфогенез вируса представляет собой основной и наиболее важный этап онтогенеза вируса и состоит из комплекса последовательных биосинтетических и формообразовательных процессов, приводящих к образованию вириона — заключительной формы развития вируса. Вирионы простых вирусов и отдельные компоненты сложных вирионов подчиняются закономерностям молекулярной самосборки. Морфогенез (морфопоэз) сложных вирусов регулируется с помощью специальных так называемых морфогенетических генов [Edgar, Epstein, 1965]. Существует пропорциональная зависимость между сложностью ультраструктуры вириона и его морфогенезом, т. е. чем сложнее организация, тем больший путь дифференциров-

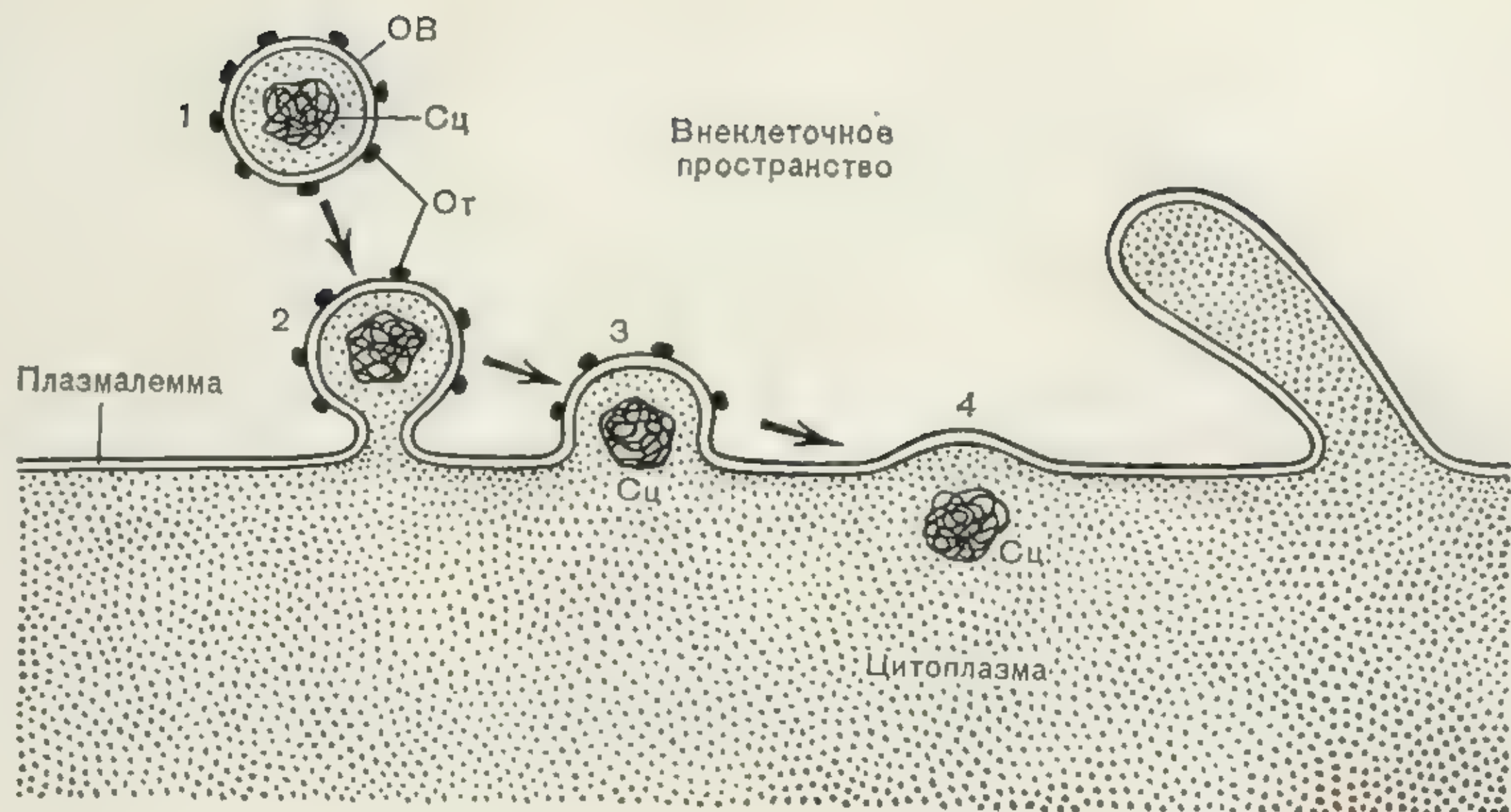


1. Морфологическая классификация ретровирусов (схема).

I — внутриклеточные формирующиеся (фСцА) и сформированные (СцА) сердцевинки онковируса типа A; II — внеклеточный онковирус типа A; III — внеклеточные онковирусы типа B и онковирус типа A, ассоциированный с типом B — A(B); IV — внеклеточные онковирусы типа C и онковирус типа A, ассоциированный с типом C — A(C); V — внеклеточные онковирусы типа D и онковирус типа A, ассоциированный с типом D — A(D); VI — внеклеточные лентивирусы типа E и типа A, ассоциированные с типом E — A(E); VII — внеклеточный спумавирус (тип F); VIII — внутриклеточный R-вирус (тип G); IX — митохондриальный онковирус типа A — MB-A; X, XI — цистерनावирусы типа A — (ЦВ-A) и A' — (ЦВ-A').

2. Проникновение онковируса в клетку в процессе слияния оболочки вируса и плазматической оболочки клетки (схема).

1 — внеклеточный онковирус типа С; 2, 3, 4 — последовательные этапы слияния оболочки вируса и клетки. ОВ — оболочка вируса; От — отростки оболочки вируса; Сц — сердцевина.



ки проходит вирус в онтогенетическом цикле развития и, следовательно, большее число морфогенетических генов контролирует этот процесс.

Онтогенетический цикл развития абстрактного вируса можно представить следующим образом [Авакян А. А., Быковский А. Ф., 1970]: родительский вирион проникает в чувствительную клетку и после прохождения стадии «раздевания» («депротенизации») геном вируса (генофор) транспортируется в необходимую для репликации область клетки и индуцирует образование виропласта (синонимы: вирусореplikативный комплекс, вирусный матрикс, вирусная фабрика). Виропласты локализуются в цитоплазме или (и) в ядре инфицированной клетки и включают в себя системы, обеспечивающие синтез специфических вирусных белков и нуклеиновых кислот, скопления этих компонентов, а в ряде случаев и вирусиндуцированные структуры, осуществляющие внутриклеточный транспорт отдельных компонентов вируса. В зоне виропласта формируются либо вирионы и провирионы, либо нуклеониды или нуклеокапсиды, либо вирусные нуклеопротеиды, гликопротеиды и т. д. После окончания дифференцировки дочерние вирионы выделяются из клетки.

Онкогенные РНК-геномные вирусы позвоночных проходят те же стадии морфогенеза, а некоторые из них — еще одну дополнительную стадию внеклеточной дифференцировки («созревания»), которая заключается в том, что внеклеточный онковирус типа А(В) превращается в онковирус типа В, а внеклеточный онковирус типа А(С) — в онковирус типа С.

Адсорбция и проникновение онкогенных РНК-геномных вирусов в клетку. Начальные этапы взаимодействия вируса и клетки включают прикрепление вириона к клеточной поверхности с помощью специфических рецепторов. Этими рецепторами, вероятно, являются гликопротеиды оболоч-

ки, которые иногда обладают гемагглютинирующей активностью и способностью связываться с клеточной поверхностью. Dales, Hanafusa (1972) обнаружили морфологически различные участки прикрепления вируса на поверхности клеток куриного эмбриона. При изучении прикрепления и вхождения в клетку вируса лейкомии мышей Miyamoto и Gilden (1971) методом электронной микроскопии показали возможность трех способов проникновения вирионов: 1) слияние вирусной и клеточной мембран, позволяющее вирусной сердцевине (нуклеониду) войти в цитоплазму; 2) прямое проникновение в цитоплазму целого вириона и последующее переваривание оболочки и 3) поглощение вирионов мембранными пузырьками с последующим слиянием мембран, транспортировка вирионов этими пузырьками через цитоплазму или их последующее слияние с лизосомами. На рис. 2 схематически изображено проникновение онковируса типа С в клетку в процессе слияния оболочки вириона и плазматической оболочки клетки. Перед слиянием в структуре вирусной оболочки происходят следующие изменения: появляются внутримембранные частицы диаметром 9 нм, в наружном слое оболочки исчезают внутримембранные частицы диаметром 14 нм и возникают линейные гребни, которые и служат, по-видимому, специализированными структурами, обеспечивающими слияние оболочки вириона с цитоплазматической мембраной [Knutton, 1976].

Вхождение в клетку вирусов лейкоза RAV-2 и саркомы (RSV) птиц основано, по-видимому, на процессе виропексиса вирионов после их прикрепления к клеточной поверхности в особых участках, покрытых электронно-оптически плотным ретикулярным веществом. Это вещество наблюдали Dales и Hanafusa (1972) после обработки клеточной поверхности DEAE-декстраном. Указанные авторы считают, что продвижение через цитоплазму вакуо-

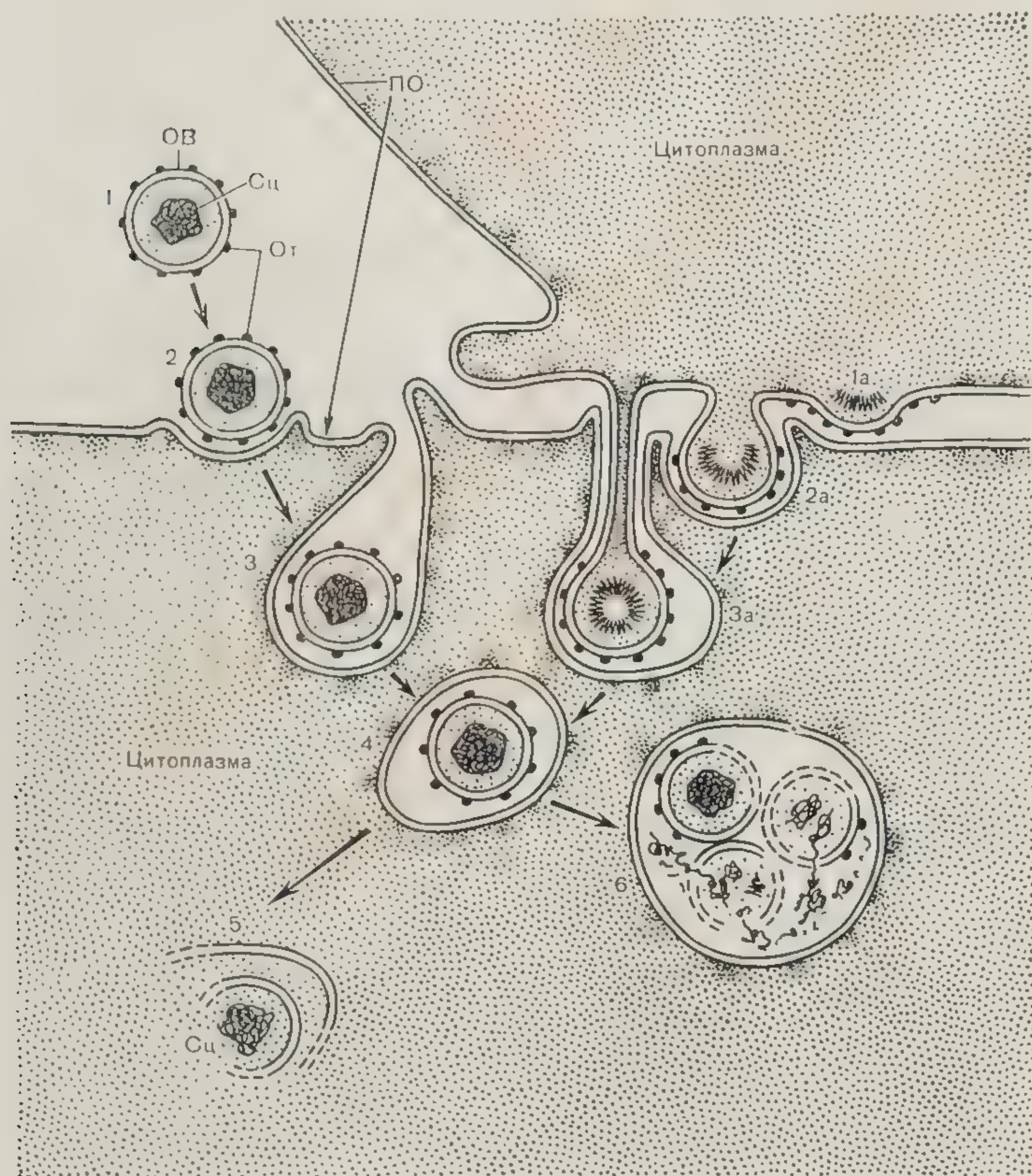
лей с фагоцитированным вирусом происходит с помощью микротрубочек. Оболочки многих вирионов внутри вакуолей выглядят нарушенными, что трактуется авторами как процесс «раздевания» вируса. Основные варианты проникновения онковирусов в клетку в процессе виropексиса представлены на рис. 3—4.

Внутриклеточное размножение онковирусов. В течение приблизительно последних 10 лет было установлено, что ингибиторы синтеза ДНК и транскрипции предупреждают как репликацию, так и трансформацию онкогенными РНК-геномными вирусами.

Биохимические процессы, связанные с репродукцией онкогенных РНК-геномных вирусов, проявляются на ультраструктурном уровне возникновением внутри гиалоплазмы скоплений линейных полирибосом, зон фибриллярного компонента, микротрубочек, опущенных везикул в области формирования вирусных сердцевин типа Сц А(С), Сц А(В) и Сц А(Д). Сердцевинки двух последних типов образуются в любом участке гиалоплазмы интерфазных и делящихся клеток. Образуются линейные полирибосомы, которые локализуются вблизи формирующихся сердцевин онковирусов типа А(Д).

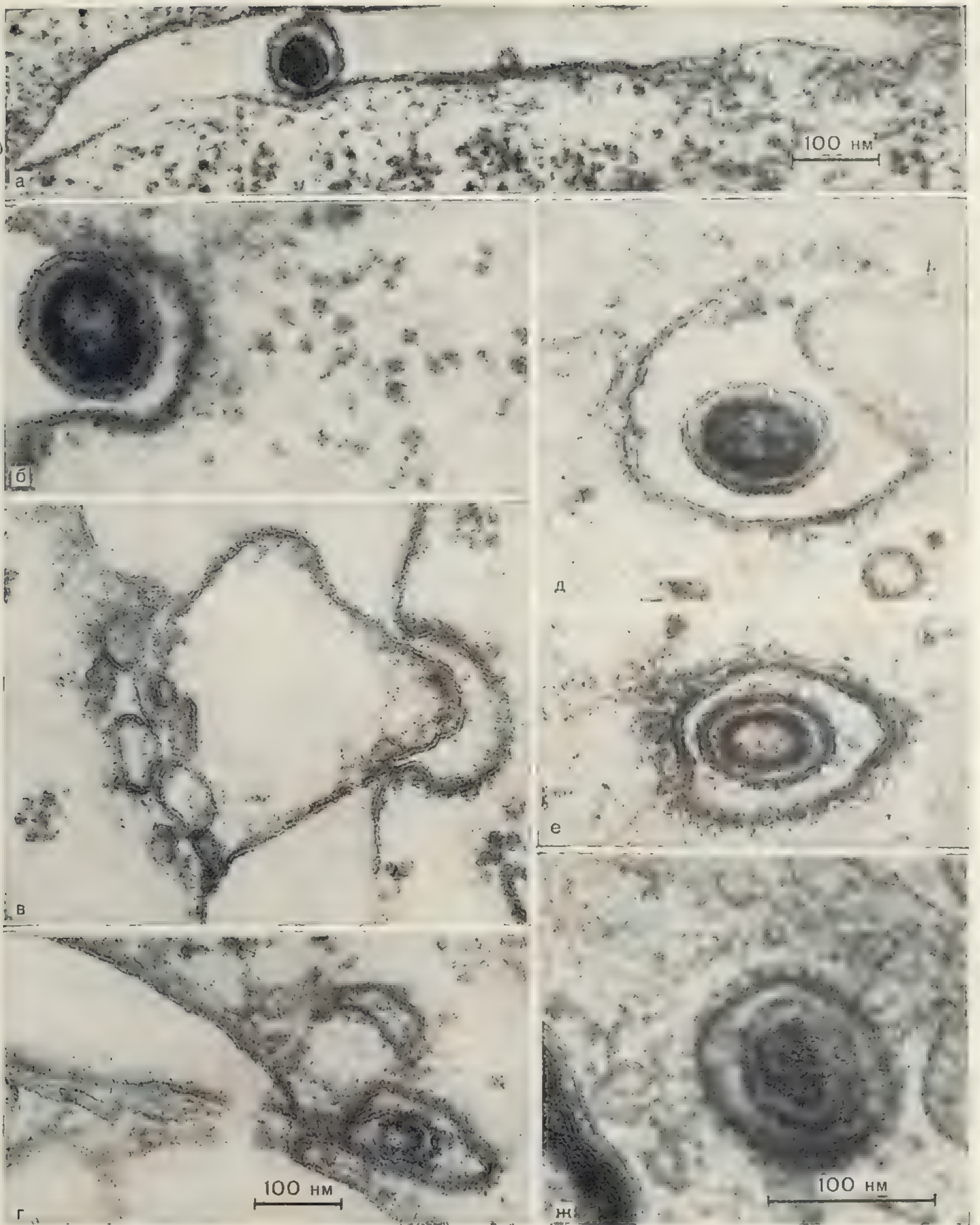
Мало известно относительно того, как происходит транспорт внутрицитоплазматических нуклеондов типа А к клеточной поверхности, где они покрываются плазматической мембраной. Один из вариантов выделения может быть связан с участием внутриклеточных вакуолей и опущенных везикул. Интересные данные получены в работе Heine и Todaro (1978), посвященной двум новым изолятам ретровирусов типа В мышей — М₄₃₂ и М₈₃₂. Эти авторы обнаружили тесную ассоциацию микротрубочек с внутрицитоплазматическими частицами типа А, что указывает на то, что микротрубочки могут участвовать в транспорте вирусных сердцевин к клеточной поверхности. Wheatley (1974) и Heine и Todaro (1978) предположили, что поскольку центриоли являются самореплицирующимися органеллами и делятся поровну между дочерними клетками, ассоциация вирусных предшественников с центриолями может представлять собой механизм вертикальной передачи этих вирусов. В области центриолей формируются также сердцевинки эндогенного вируса хомяков и сердцевинки онковирусов типа А(В).

На рис. 5 схематически представлены данные о формировании сердцевин онковирусов позвоночных. Предшественник



3. Проникновение онковирусов в клетку в процессе виropексиса (схема).

1 — внеклеточный онковирус типа С; 2 — адсорбция вируса на свободной клеточной поверхности; 3 — рофеоцитоз вируса; 1а, 2а, 3а — последовательные этапы проникновения онковирусов типа А, почкующихся на поверхности соседней клетки; 4 — локализация вируса в фагосоме; 5 — проникновение сердцевинки вируса в цитоплазму; 6 — разрушение онковирусов в фаголизосоме. ПО — плазматическая оболочка клетки, ОВ — оболочка вируса, Сц — сердцевина, От — отростки оболочки вируса.



4. Проникновение онкогенных РНК-геномных вирусов в клетку (ультратонкие срезы).

а — адсорбция онковируса типа С на плазмалемме; б — проникновение онковируса типа А в процессе виропексиса; в, г — проникновение формирующихся онковирусов в процессе виропексиса в соседнюю клетку; д, е — локализация онковирусов типа А во внутриклеточных вакуолях; ж — локализация онковируса типа С внутри опущенной везикулы.
а, в, г — ув. 150 000; б, д, е, ж — ув. 300 000.

белков оболочки мышинных онковирусов типа С ассоциирован с гранулярным эндоплазматическим ретикуломом, а зрелая (gp70) форма, содержащая сialовую кислоту, обнаружена в гладком эндоплазматическом ретикулуме, где часть молекул gp70 уже связана с p15(E) дисульфидными связями [Witte et al., 1970]. Сходные данные получены при изучении предшественников гликопротеинов оболочки птичьих вирусов типа С [Науман, 1978].

Сборка вирионов происходит при участии белка внутреннего покрытия (вероятно, p19 у птичьих и p12 у мышинных вирусов типа С). Предполагают, что этот белок, будучи частью продукта гена gag, специфически взаимодействует с гидрофобными частями молекул белков оболочки, которые погружены в липиды мембраны. Другая часть молекулы предшественника специфически связана с вирионной РНК [Bolognesi et al., 1977].

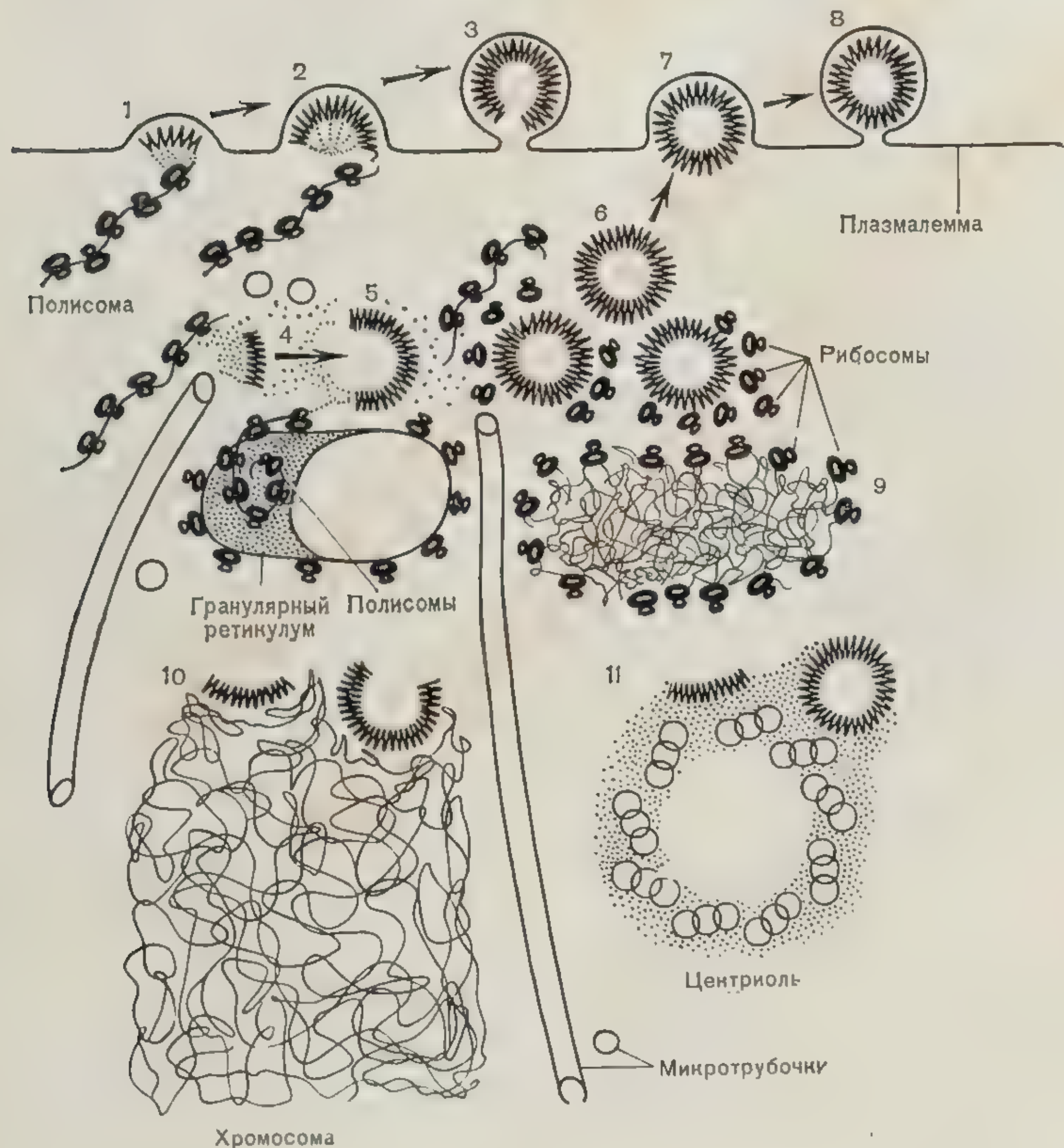
После образования в инфицированной клетке необходимого пула вирусспецифических молекул происходит сборка вирионов. Самая ранняя стадия, выявляемая в ультратонких срезах при сборке вириона типа А(С), состоит в небольшом выпячивании клеточной мембраны, которое легко распознается по лежащему под ней плотному рибонуклеопротеидному компоненту.

Дальнейшие стадии включают последовательную и упорядоченную укладку вирусных структурных компонентов. РНП появляется сначала в виде небольшой дуги, затем увеличивающейся до полукруга и, наконец, кольца.

Основные формы почкования онкогенных РНК-геномных вирусов схематически изображены на рис. 6.

Онковирусы могут почковаться на мембранах внутриклеточных вакуолей, гранулярного и агранулярного эндоплазматического ретикулума. Особый интерес вызывает формирование митохондриальных онковирусов типа А (МВ—А) с использованием мембран митохондрий, а также почкование нуклеондов онковирусов типов А(В), А(С) и А(Д) на мембранах лизосом (рис. 7), концах цитоплазматических отростков, в зоне межклеточных контактов, десмосом. Вблизи почкующихся сердцевин наблюдаются скопления вакуолей, которые могут быть либо опущенными везикулами, либо пиноцитозными вакуолями. Предполагается, что эти образования могут быть связаны с почкованием [Kang et al., 1975].

Рибосомы и полирибосомы локализуются в непосредственной связи с сердцевинами онковирусов типа А(С), формирующимися на поверхности клеток. Отдель-



5. Формирование сердцевины различных типов онковирусов (схема).

1—3 — онковирусы типа А(С); 4—9 — онковирусы типов А(В) и А(Д); 10 — онковирусы в зоне клеточных хромосом; 11 — онковирусы в зоне центриолей.

ные рибосомы могут входить в состав образующегося вируса (рис. 8).

В формирующейся вирусной почке клеточная мембрана претерпевает значительные изменения, превращаясь в оболочку вириона. Плазматическая оболочка клетки лишается присущих ей внутримембранных частиц [Scheffield, 1974], скопления которых обнаруживаются у основания почкующихся вирионов [Brown, Riedel, 1977].

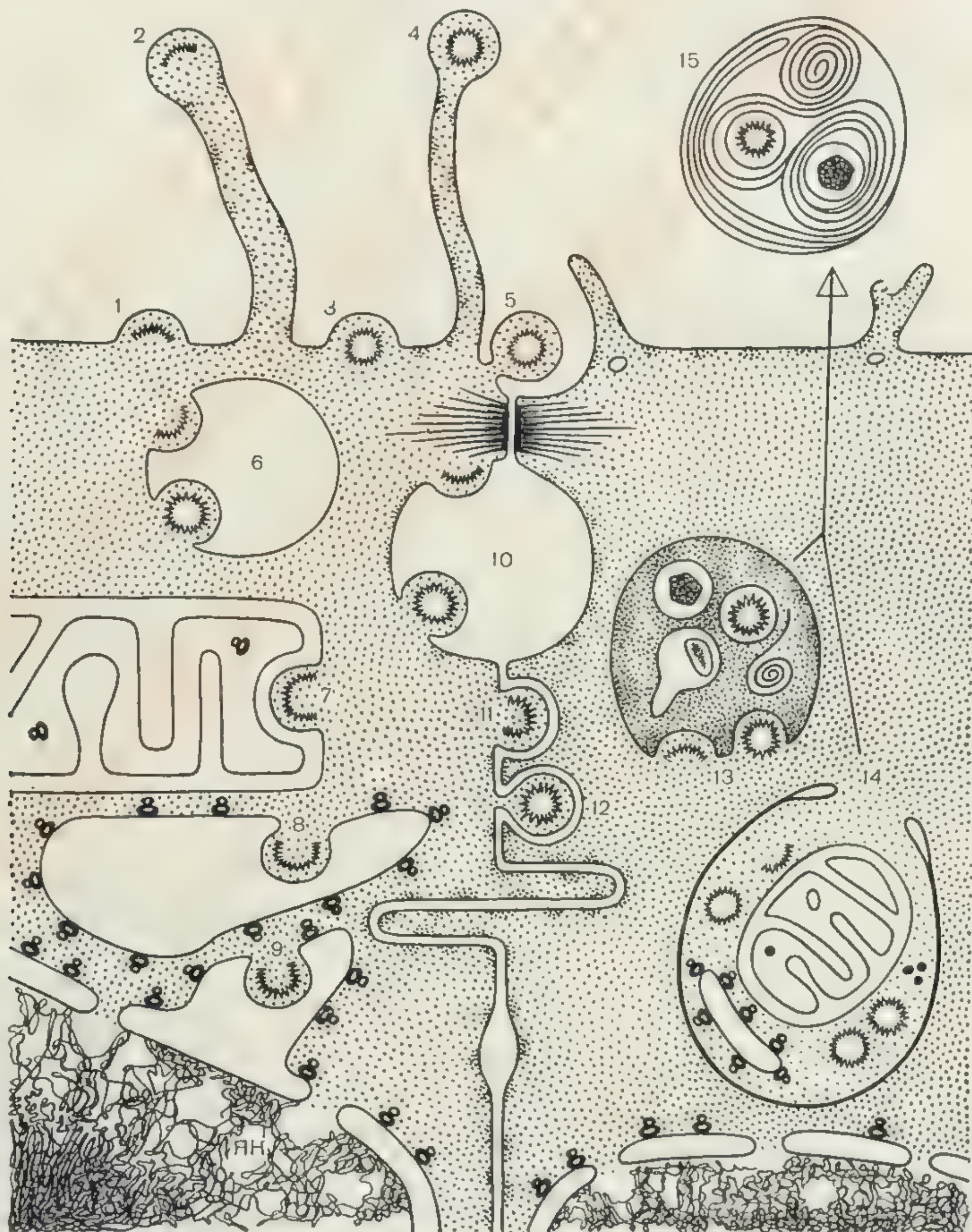
Witte с соавт. (1977), изучая формирование MSV-MLV в линии фибробластов крысы, показали, что внутриклеточный предшественник вирионных гликопротеинов — gp80 — протеолитически расщепляется и спалидирруется у плазматической мембраны в зрелые гликопротеиды вириона gp69, gp71, которые включаются в клеточную мембрану в местах почкования онковируса. Damsky и др. (1977) предполагают, что для выделения покрытых оболочкой вирусов из клетки-хозяина необходимо взаимодействие между актином и материалом, ассоциированным с созревающими вирусными частицами. На рис. 9 показана возможность включения актина в состав почкующегося вируса.

При выделении вирионов онковирусов из клеток возможно включение в вирусную частицу различных цитоплазматических компонентов, например микрофибрилл, микротрубочек, рибосом и др. [Быковский А. Ф. и др., 1971, 1972; de Harven, Sato, 1973].

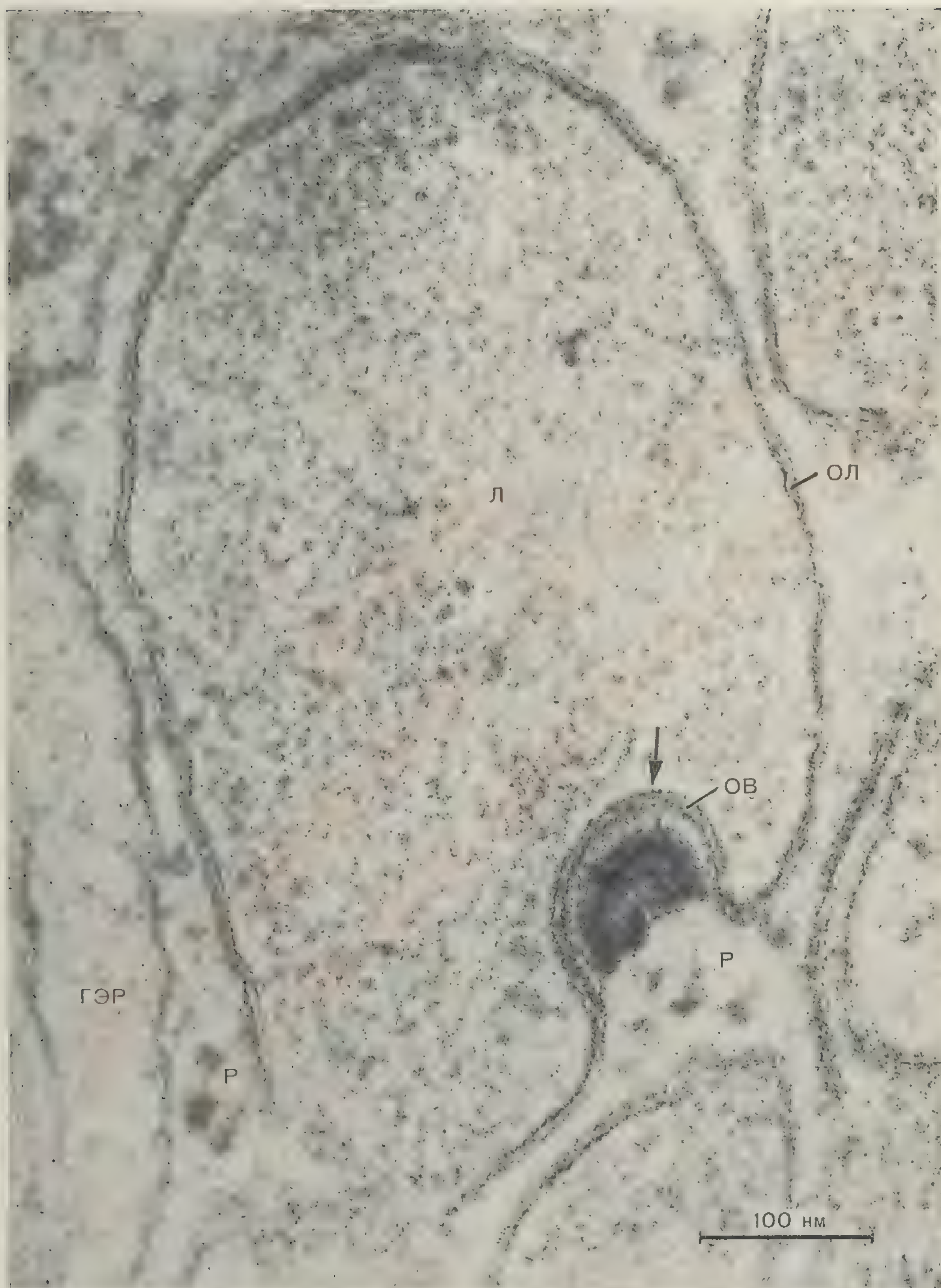
В 1978 г. Bolognesi и сотр. на основании изучения онкогенных РНК-гепомных вирусов птиц и мышей, а также данных о биосинтезе компонентов этих вирусов предложили следующую схему формирования онковируса: 1) комплексы, состоящие из компонентов оболочки вируса, мигрируют к клеточной поверхности и включаются в мембрану в местах почкования вируса; 2) перасщепленные молекулы предшественника внутренних вирусных полипептидов затем транспортируются к участкам почкования, где один конец молекулы соединяется с комплексом вирусной оболочки, а другой — с вирусной РНК; 3) по мере созревания вируса протеолитические ферменты расщепляют в соответствующих участках молекулы предшественника, создавая индивидуальные структурные элементы вируса; 4) со-

6. Локализация почкования онковирусов (схема).

- 1, 3 — на поверхности клетки;
2, 4 — на концах клеточных отростков; 5 — в зоне десмосомы;
6 — на поверхности внутриклеточной вакуоли; 7 — на поверхности митохондрий;
8 — в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума;
9 — в перинуклеарной зоне;
10 — в полости межклеточного канала; 11, 12 — в зоне межклеточных контактов;
13 — в полости лизосомы; 14 — в области формирующейся и (15) внеклеточной цитолисомы, ЯК — ядро клетки.

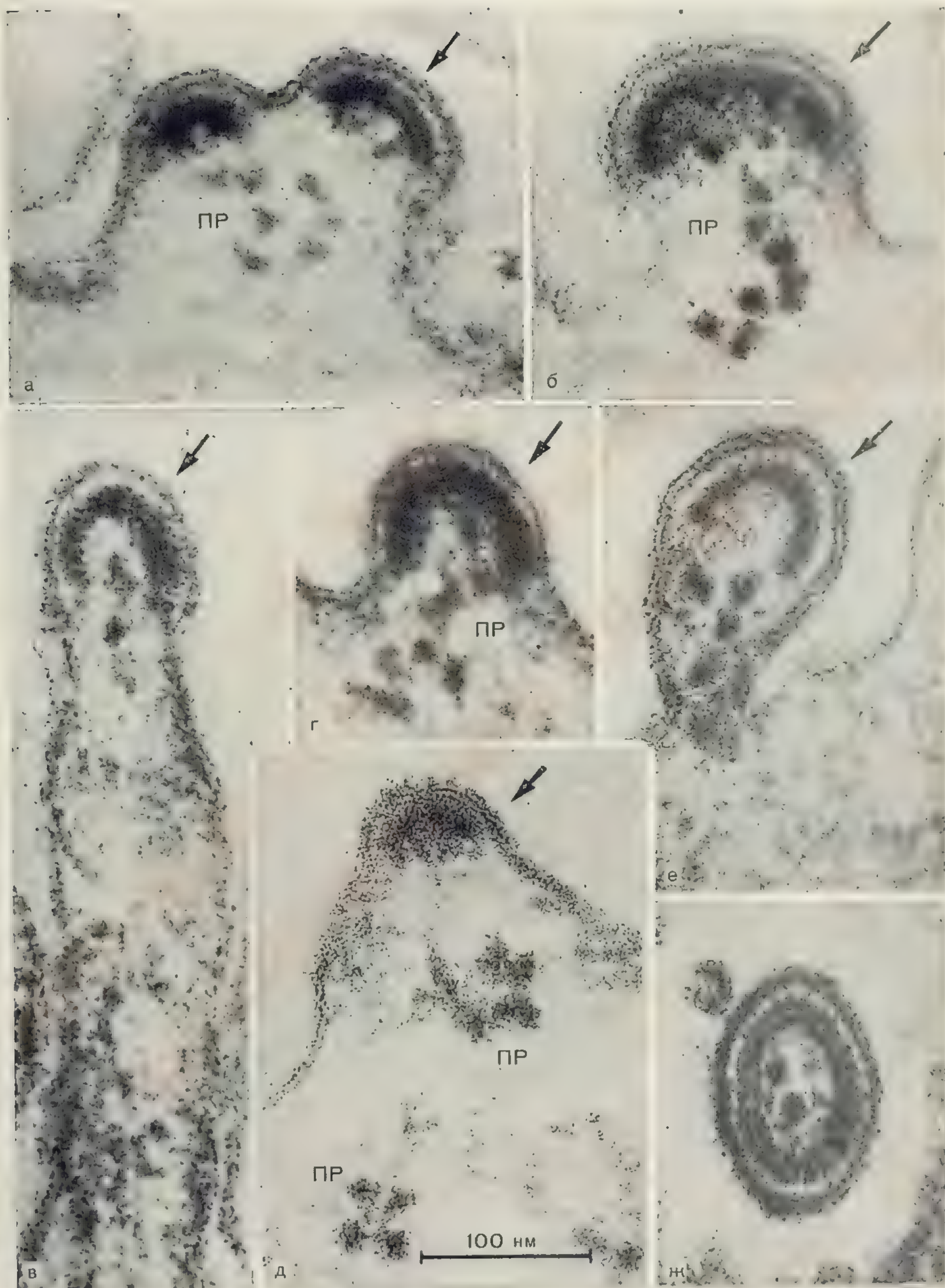


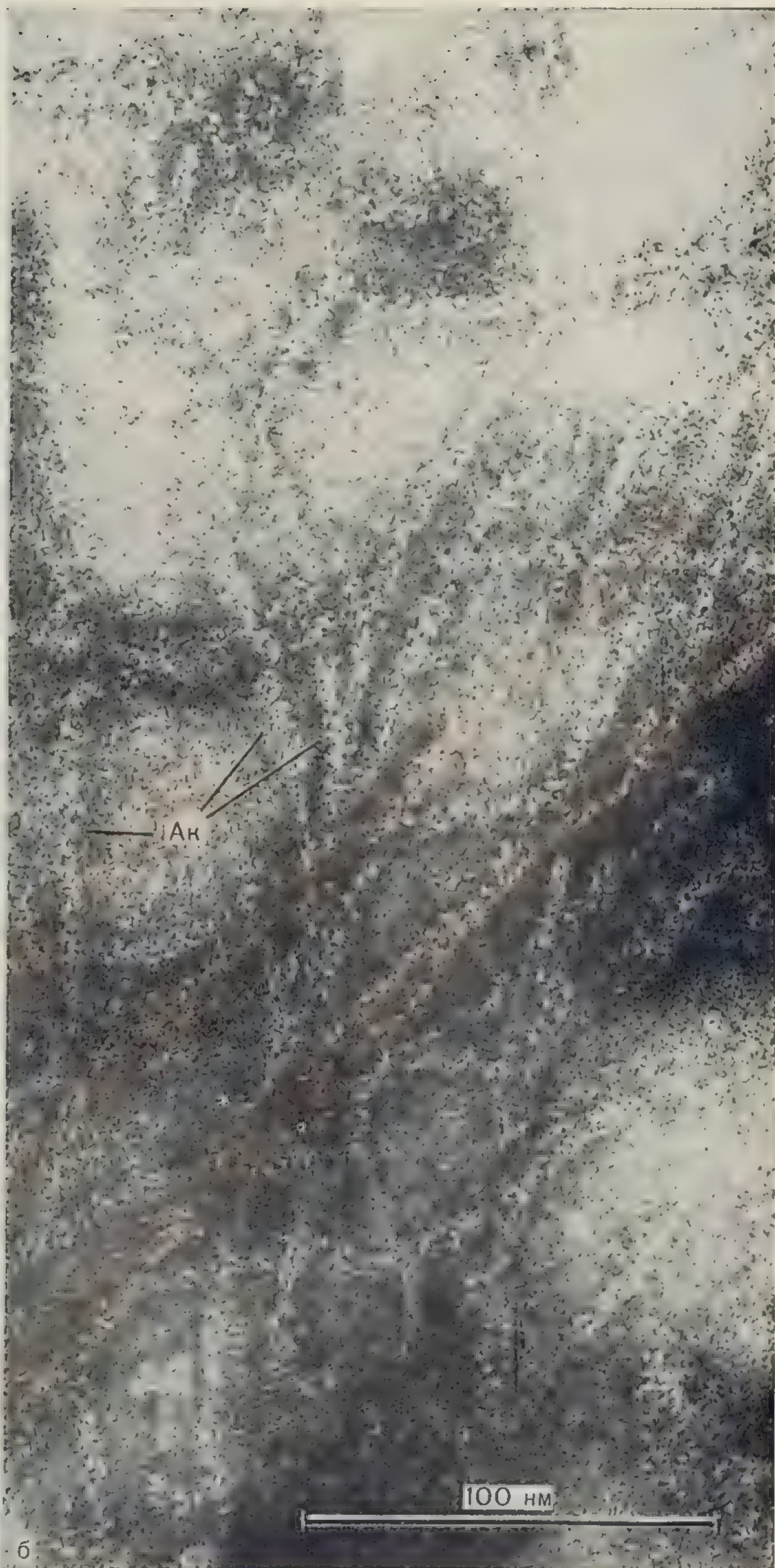
7. Почкование онковируса типа А (С) внутри
клеточной лизосомы (Л). Ув. 300 000.
ОЛ — оболочка лизосомы; ОВ — оболочка вируса;
Р — рибосомы, ГЭР — гранулярный
эндоплазматический ретикулум. Стрелкой показано
почкование онковируса.



8. Предполагаемое включение полирибосом (ПР) и рибосом в состав онковирусов типа А (С).
Ув. 300 000.

а — е — различные этапы почкования онковирусов (показано стрелками), ж — внеклеточный онковирус.





9. Включение молекул актина (Ан) в почкующийся (показан стрелками) онковирус (негативное контрастирование).
а — обзор, ув. 180 000; б — фрагмент, ув. 600 000.

ответствующие компоненты вириона затем ассоциируют между собой или с другими молекулами (или и то, и другое сразу), образуя субструктуры зрелого вируса: оболочку, внутреннее покрытие, оболочку сердцевинны и рибонуклеопротеидный комплекс.

На рис. 10 изображены основные этапы формирования супрамолекулярных структур абстрактного онковируса типа А(С) в процессе почкования на поверхности клетки. По мере сборки сердцевинны увеличивается кривизна выпячивания клеточной мембраны. Это характерно как для онковирусов типа А(С) (рис. 11), так и для онковирусов типа А(Д). По окончании сборки вирион отделяется от клетки.

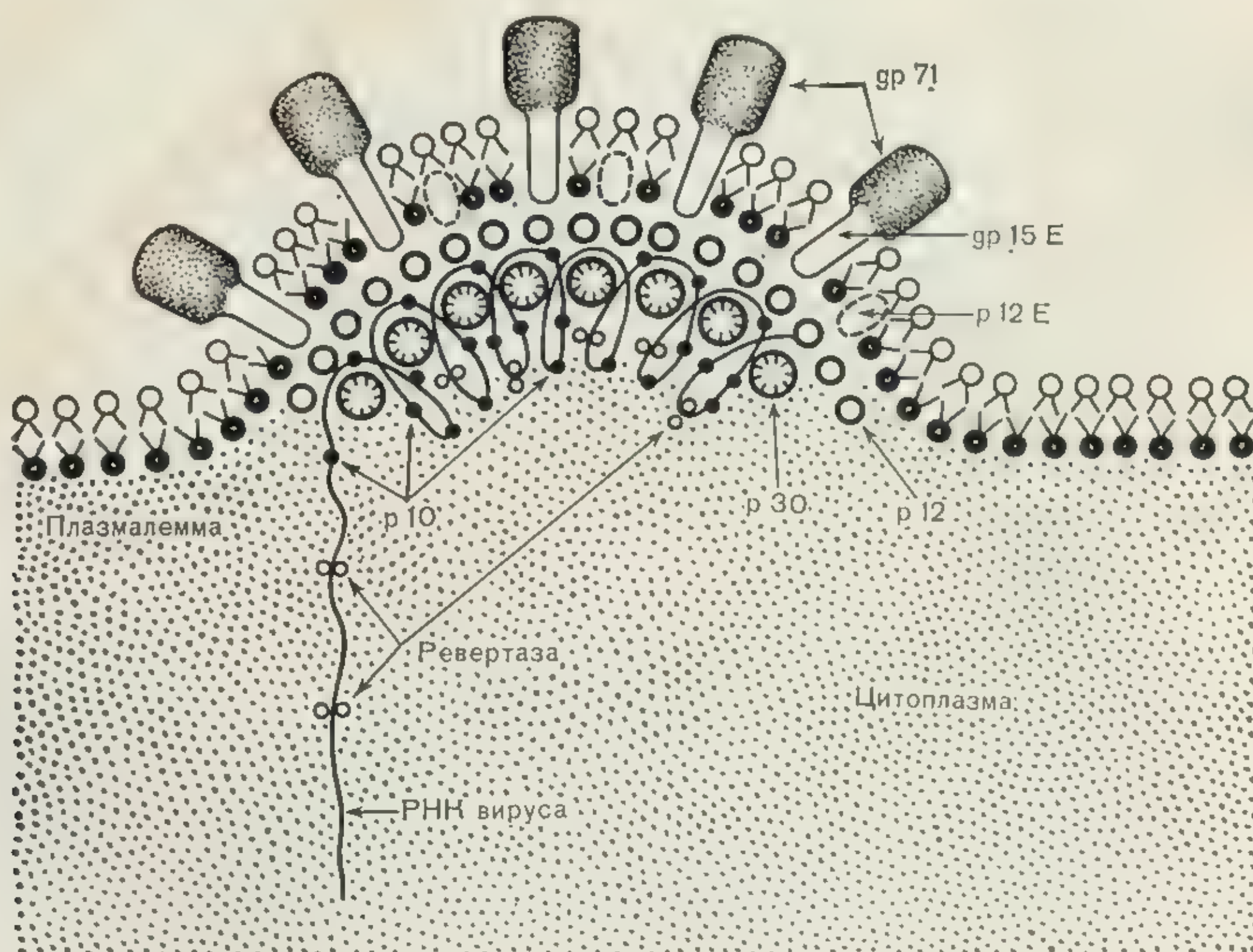
Вирионы онковирусов локализуются либо во внеклеточном пространстве, либо во внутриклеточных вакуолях, цистернах эндоплазматического ретикулума, перинуклеарной зоне, паружной камере митохондрий, фагосомо-лизосомальном аппарате клетки. Онковирусы или их сердцевинны, локализуясь в лизосомах клеток, могут выделяться во внеклеточное пространство с помощью механизмов клеточной секреции. В этом случае онковирусы локализуются внутри миелиноподобных структур (остаточных телец лизосом), выделившихся из клетки (рис. 12).

Внеклеточная дифференцировка онковирусов типа А(С). Уже в ранних работах предполагали [de The et al., 1964], что отделившиеся от клетки незрелые вирионы типа С [онковирусы типа А(С)] находясь в нестабильном состоянии и во внеклеточном пространстве претерпевают морфологические изменения, приводящие к формированию зрелых вирионов типа С с центральным плотным нуклеондом [Sarkar

et al., 1971]. При этом происходит конверсия 30—35S РНК в 70S РНК. Оба процесса коррелируют между собой и протекают с одной и той же скоростью [Cheung et al., 1972; Canaani et al., 1973; Korb et al., 1976]. Кроме того, переход от сферического («незрелого») нуклеоида к плотному («зрелому») нуклеонду сопровождается расщеплением белка р70 [Yoshinaka, Luftig, 1977]. Была установлена прямая зависимость между количеством онковирусов типа А в препаратах вируса Раушера и количеством р70, который отсутствует в вирионах онковируса типа С. Обработка RLV низкой концентрацией NP-40 в течение 16 ч при 22° С приводила к уменьшению на 70% числа сердцевин типа А и соответствующему увеличению количества сердцевин типа С, а также уменьшению на 60—90% белка р70 и увеличению (на 30%) белка р40—42.

Предполагают, что белок р70 необходим для поддержания организации внутреннего компонента незрелых сердцевин. Luftig, Yoshinaka (1978) показали при негативном окрашивании существование двух морфологических типов сердцевин незрелых вирионов: с плотной спиральной закрученной структурой и большим соотношением белков р70 и р30 и с менее спиральной структурой и низким соотношением этих белков. Авторы предположили, что различный уровень р70 в препаратах RLV зависит от количества протеазы хозяина, находящейся вблизи почкующихся частиц. Кандидатом на роль протеазы может быть специфический протеолитический фактор, обнаруженный в вирионе [Jamjoom et al., 1976; Yoshinaka, Luftig, 1977].

Скорость превращения онковирусов ти-

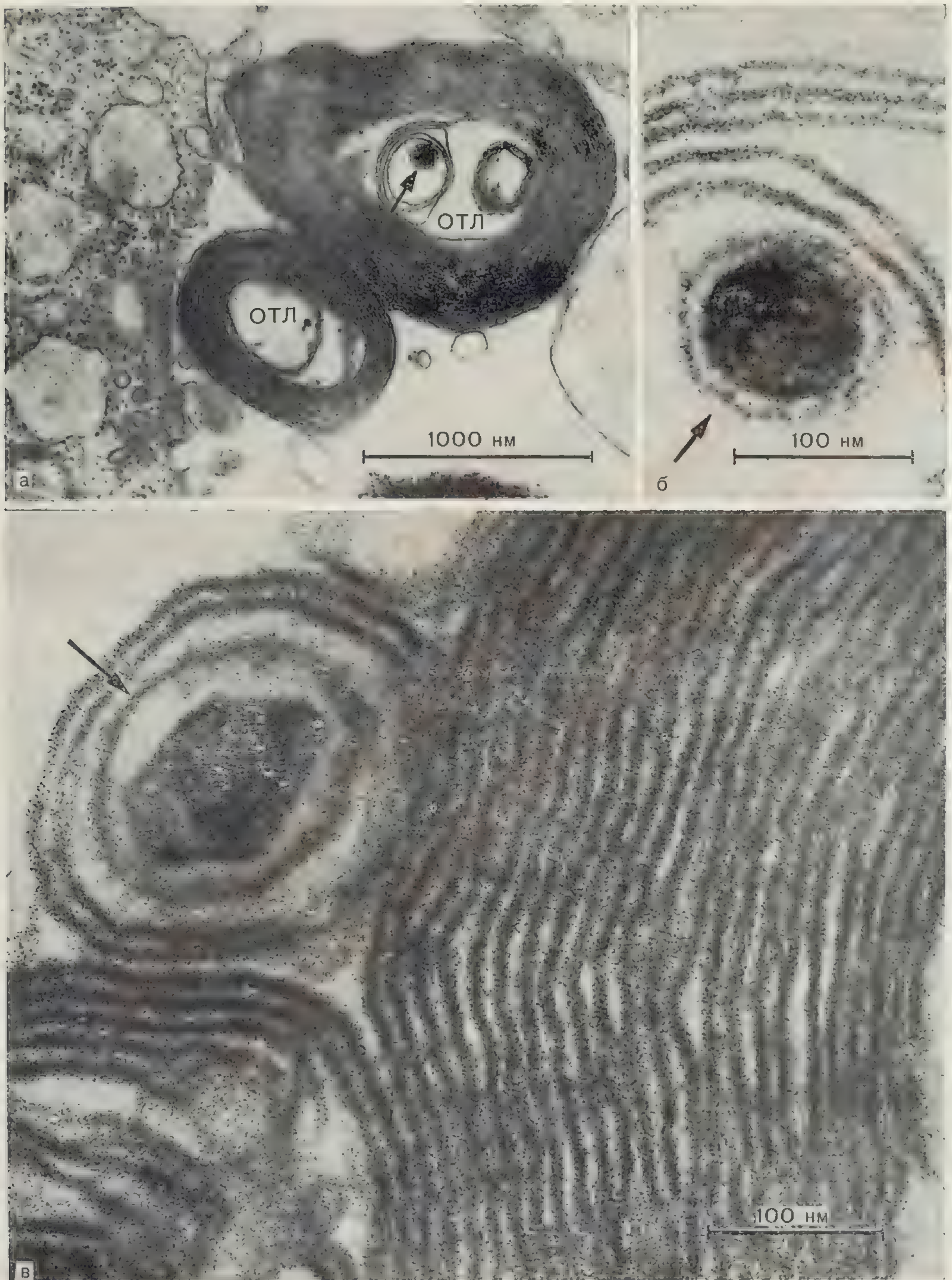


10. Почкование онковируса типа А(С) на поверхности клетки (схема).

11. Почкование онковирусов лейкоза Раушера (а) и лейкоза Молони (б). Стрелками показаны зоны гиалоплазмы с повышенной электронно-оптической плотностью, формирующиеся в местах отделения онковируса от клетки.
а — ув. 760 000, б — ув. 300 000.

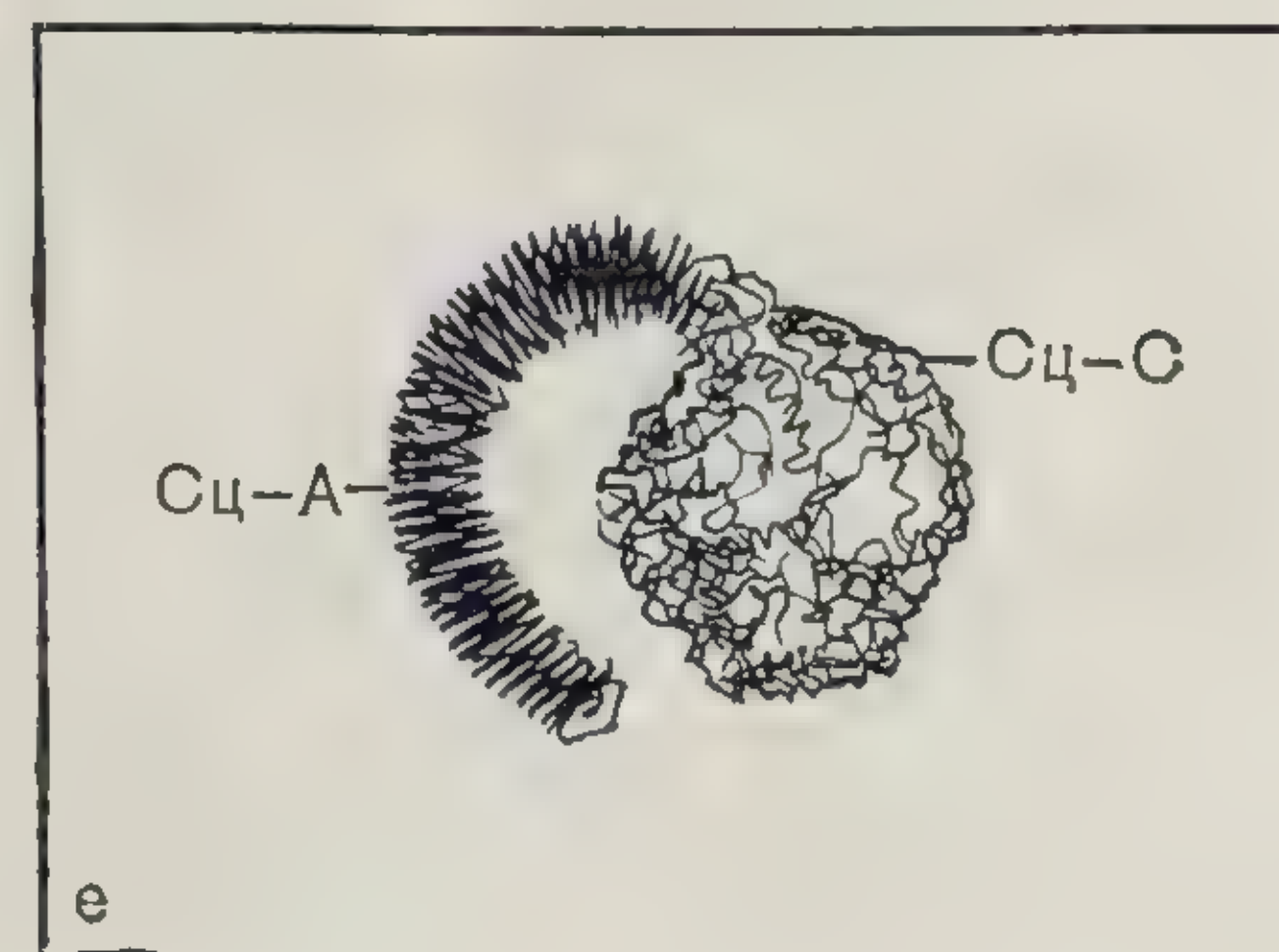
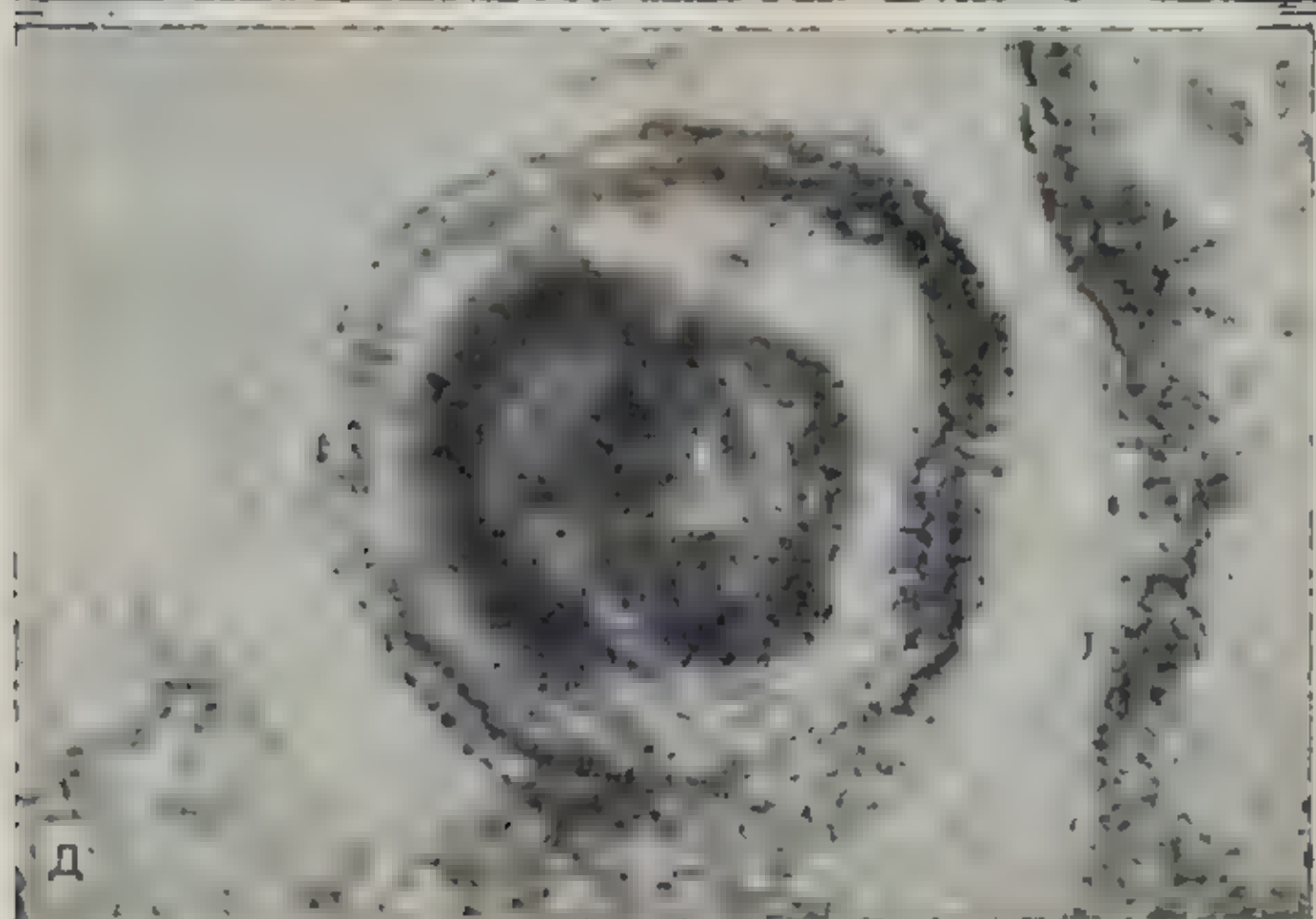
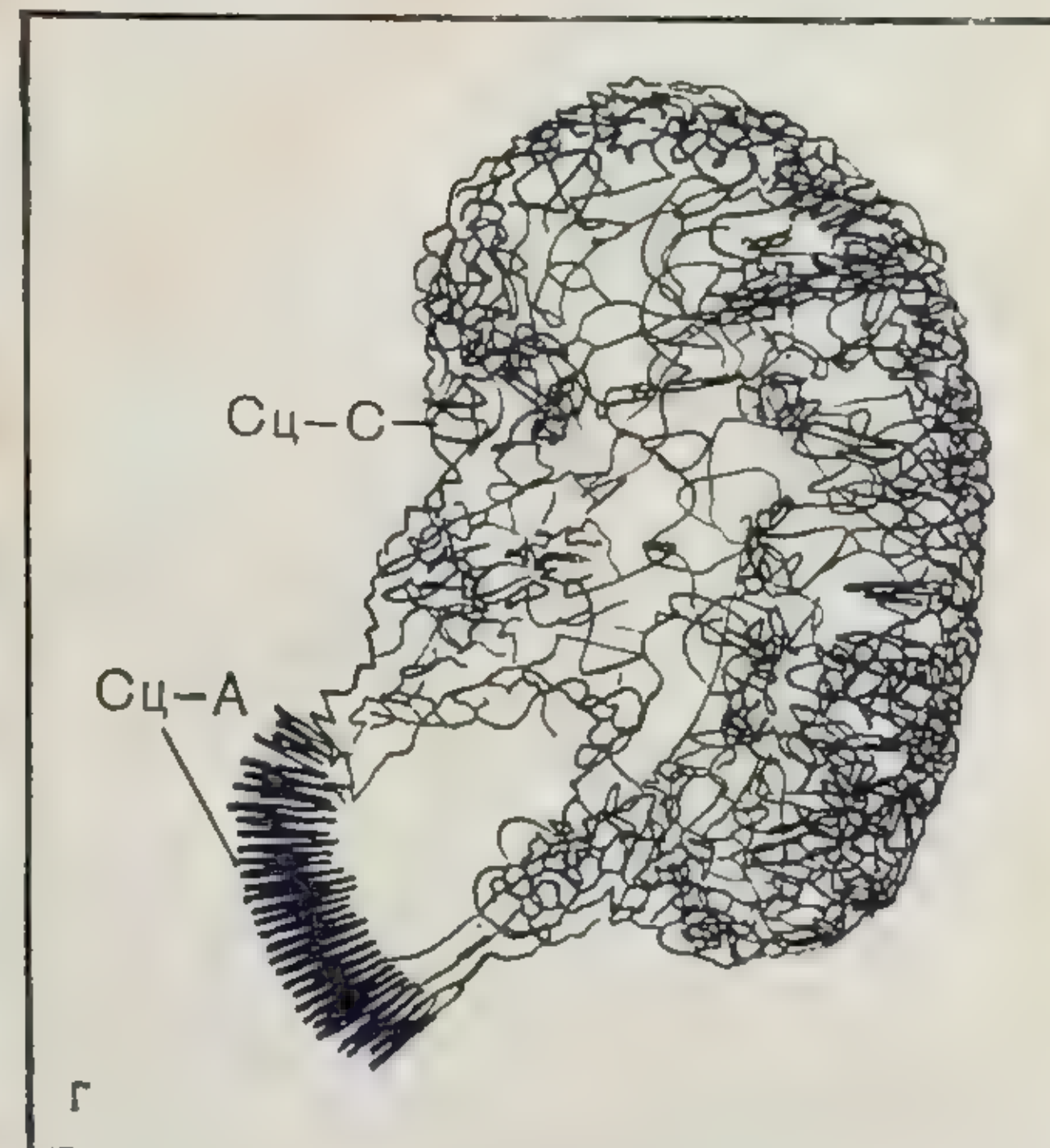
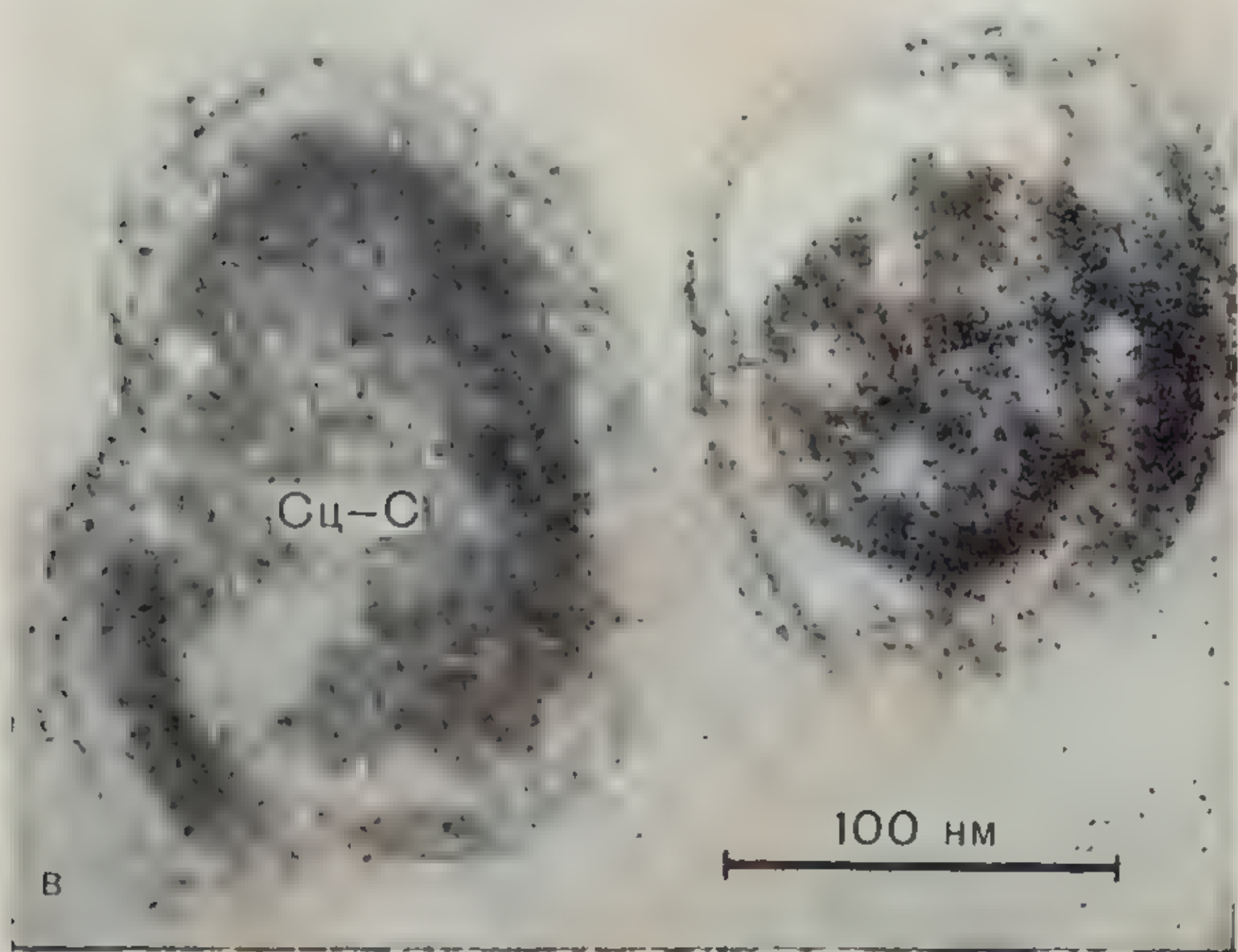
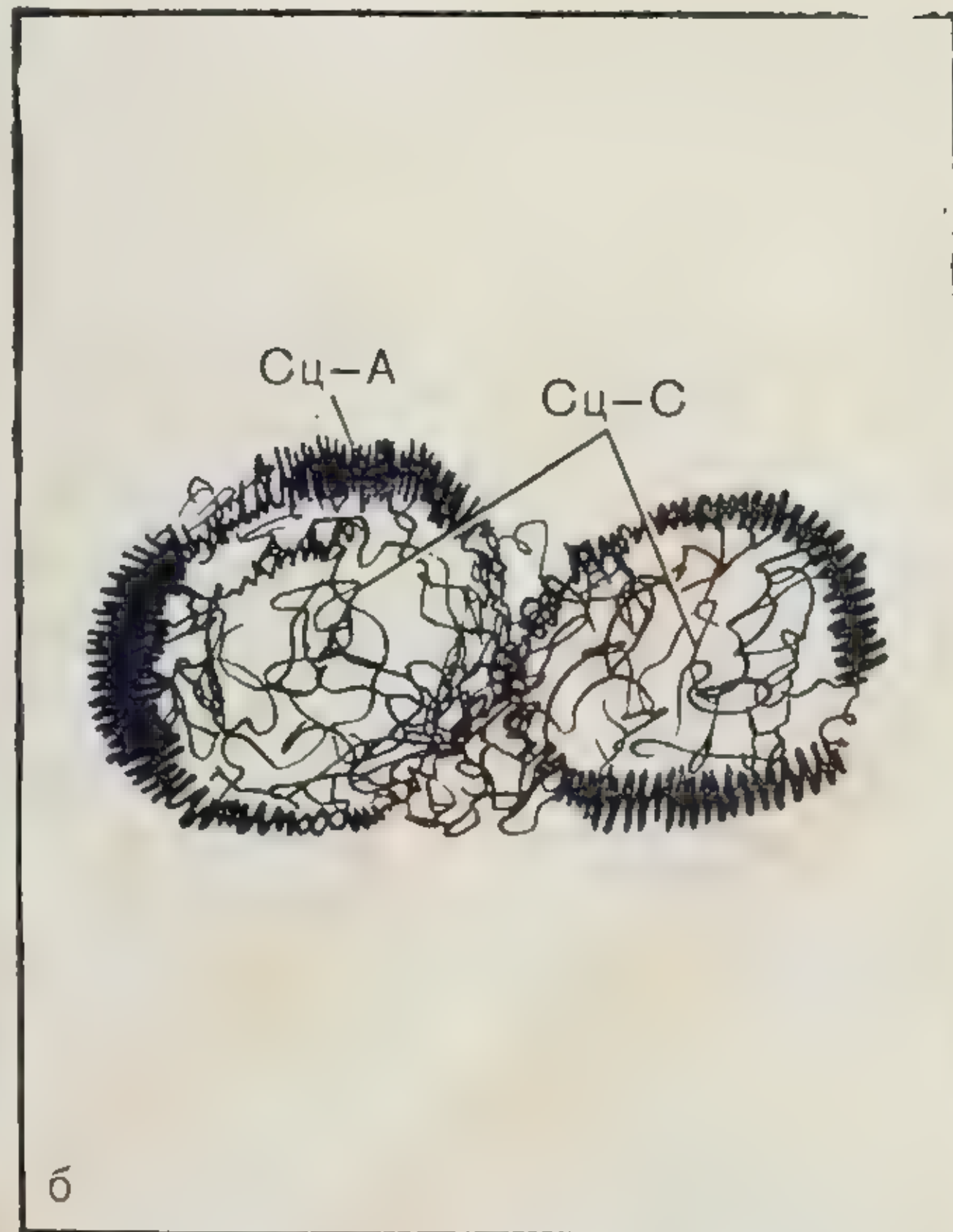
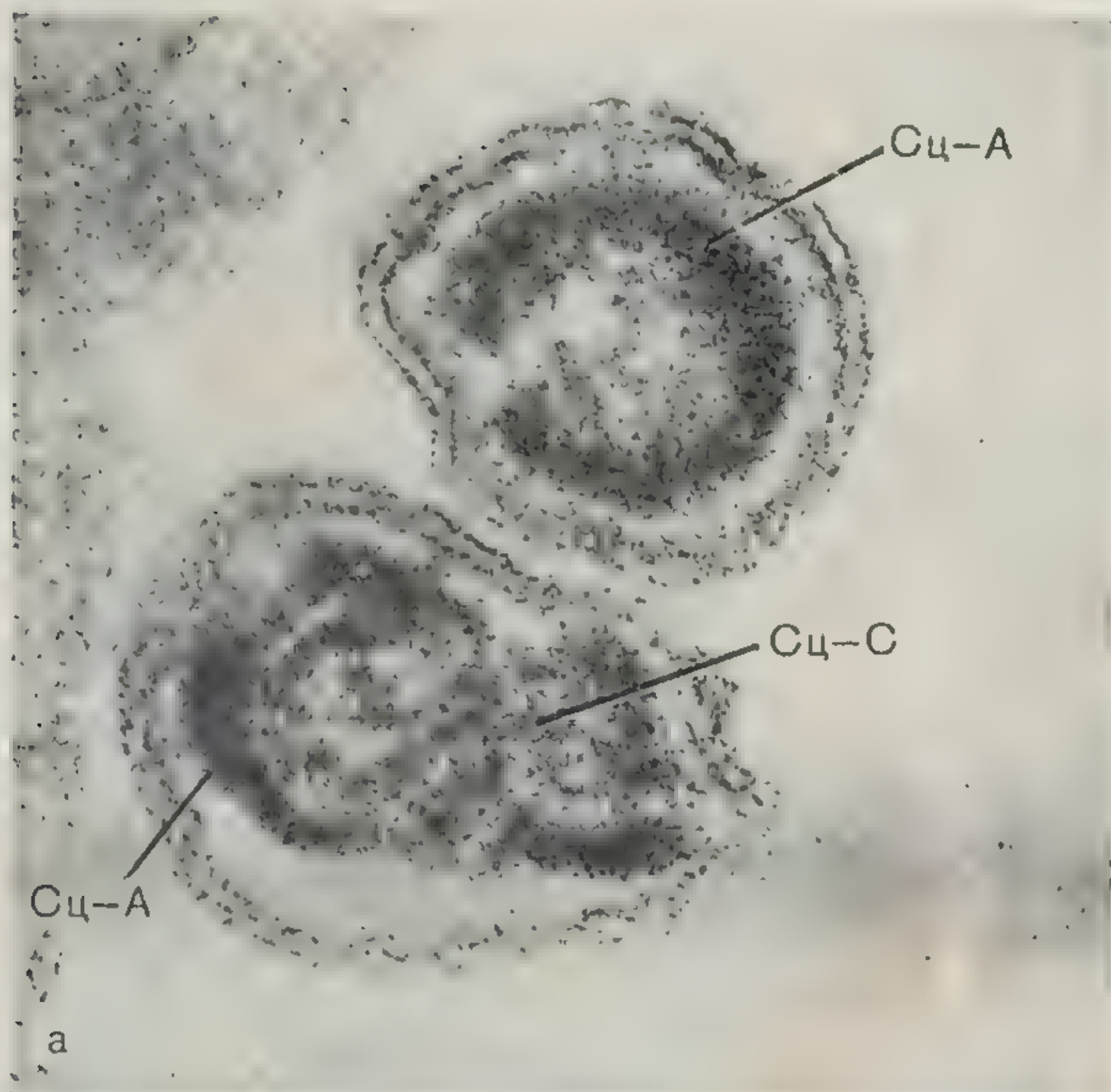


12. Онковирусы типа $\bar{C}$ (указано стрелкой) внутри
внеклеточных остаточных телец лизосом (ОТЛ).
а — ув. 40 000, б, в — ув. 300 000.



13. Внеклеточные переходные формы от онковирусов типа А (С), сердцевина которых имеет вид сферы (Сц-А), к онковирусам типа С с электронно-оптически плотными сердцевинами (Сц-С).

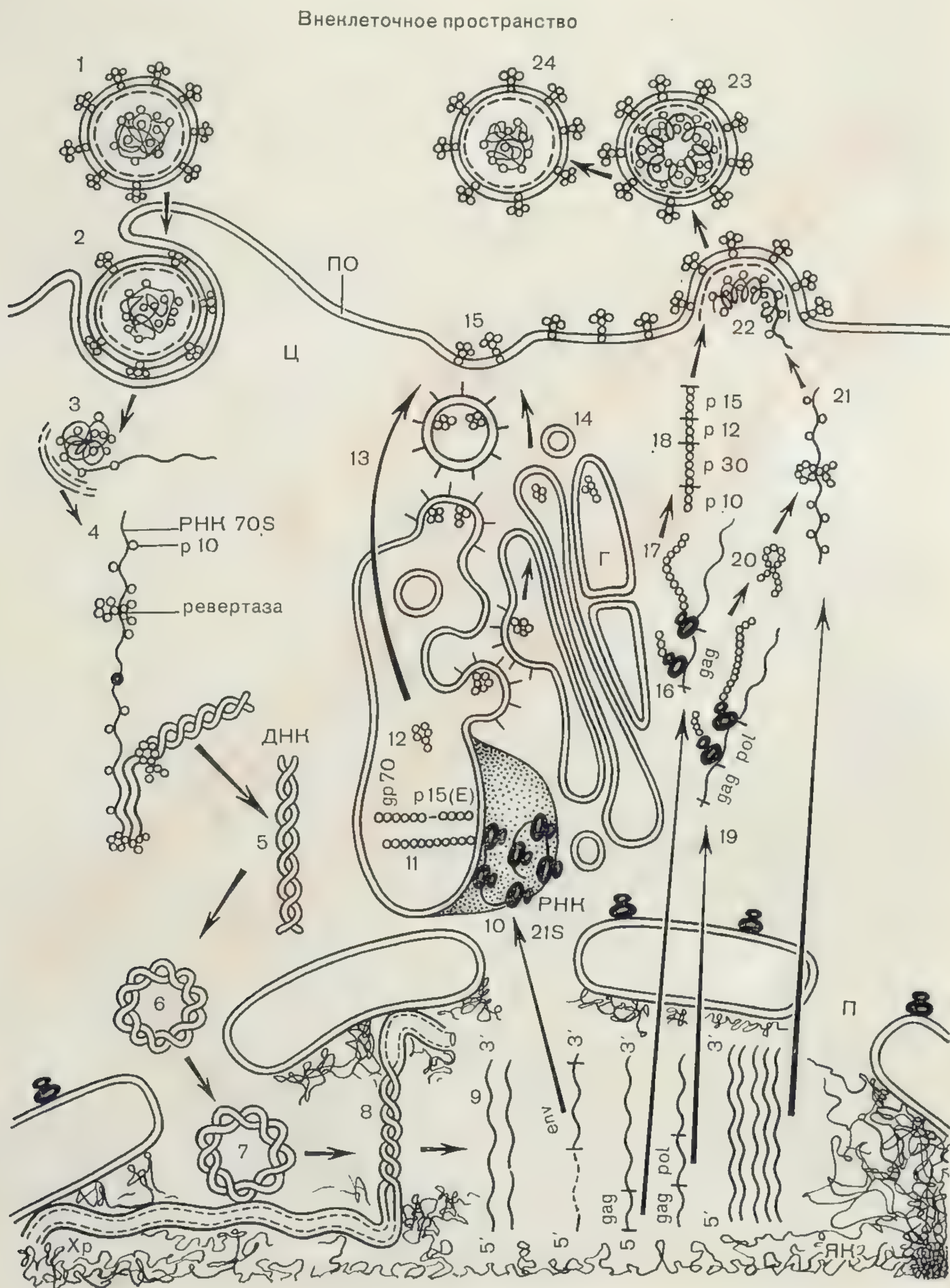
а, в, д — электронно-микроскопические фотографии, ув. 300 000; б, г, е — соответствующие им схемы.



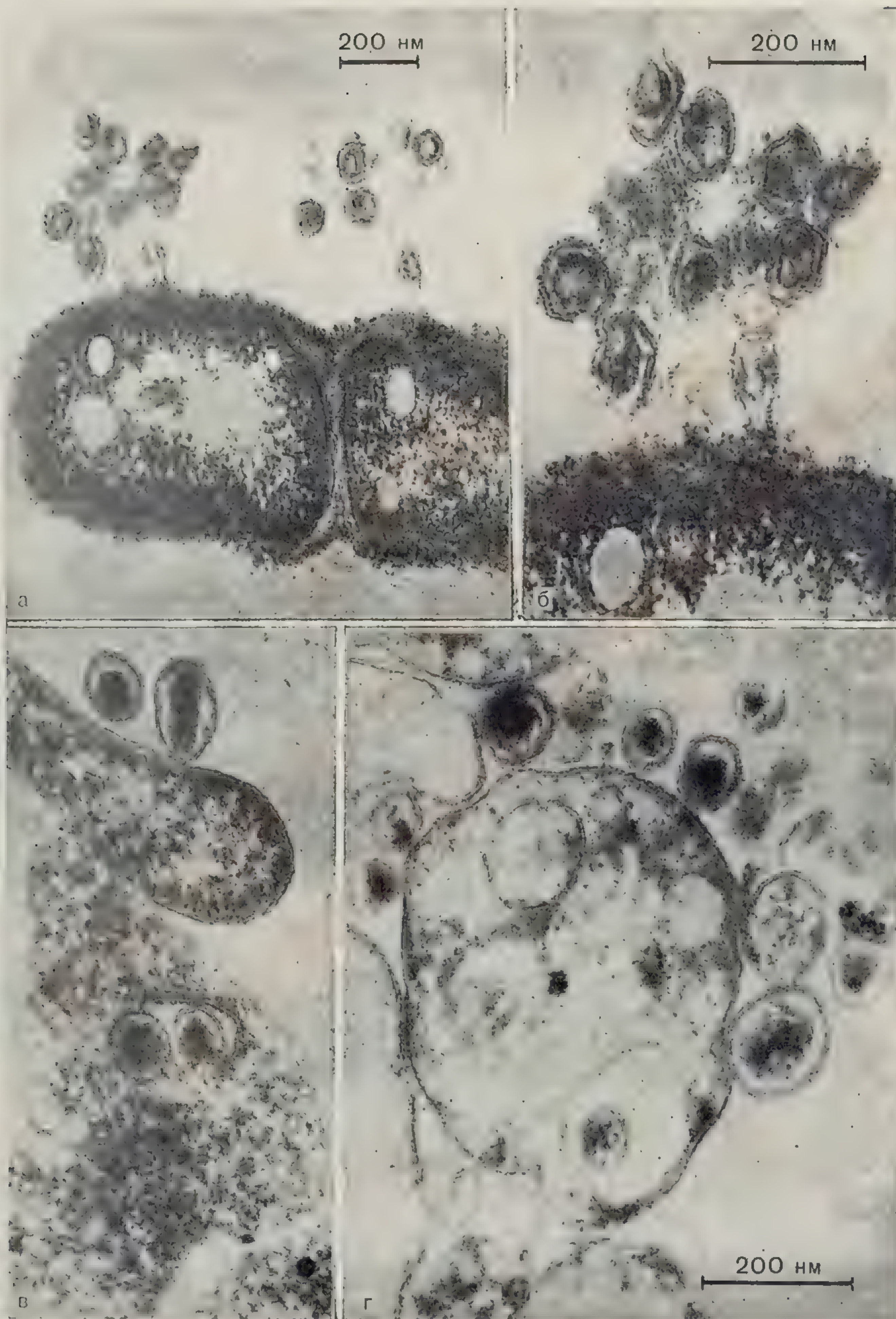
14. Обобщенная схема основных этапов цикла развития онкогенного РНК-геномного вируса.

1 — внеклеточный онковирус; 2 — адсорбция и проникновение онковируса в клетку; 3 — внутриклеточное «раздевание» онковируса; 4 — транскриптивный комплекс; 5 — двухспиральная вирусная ДНК; 6, 7 — транспорт кольцевой ДНК онковируса в ядро клетки; 8 — интеграция ДНК-транскрипта онковируса в хромосому клетки; 9 — вирусная РНК; 10, 11 — синтез вирусных гликопротеидов (gp.) на мембранах гранулярного эндоплазматического ретикулума; 12, 13 — предполагаемый транспорт вирусных гликопротеидов в опущенных везикулах и поверхности клетки; 14 —

предполагаемый транспорт вирусных гликопротеидов через GERL-комплекс или аппарат Гольджи; 15 — локализация гликопротеидов онковируса на поверхности клетки; 16—18 — синтез белков сердцевин онковируса (p10, p12, p15, p30) на свободных полирибосомах, 19—20 — синтез обратной транскриптазы онковируса на свободных полирибосомах; 21 — транспорт вирусного РНП к поверхности клетки; 22 — формирование онковируса типа А (С) в процессе почкования на поверхности клетки; 23 — внеклеточный онковирус типа А (С); 24 — внеклеточный онковирус типа С, Ц — цитоплазма, ЯК — ядро клетки; П — поры ядерной оболочки; ПО — плазматическая оболочка; Хр — хромосома клетки.

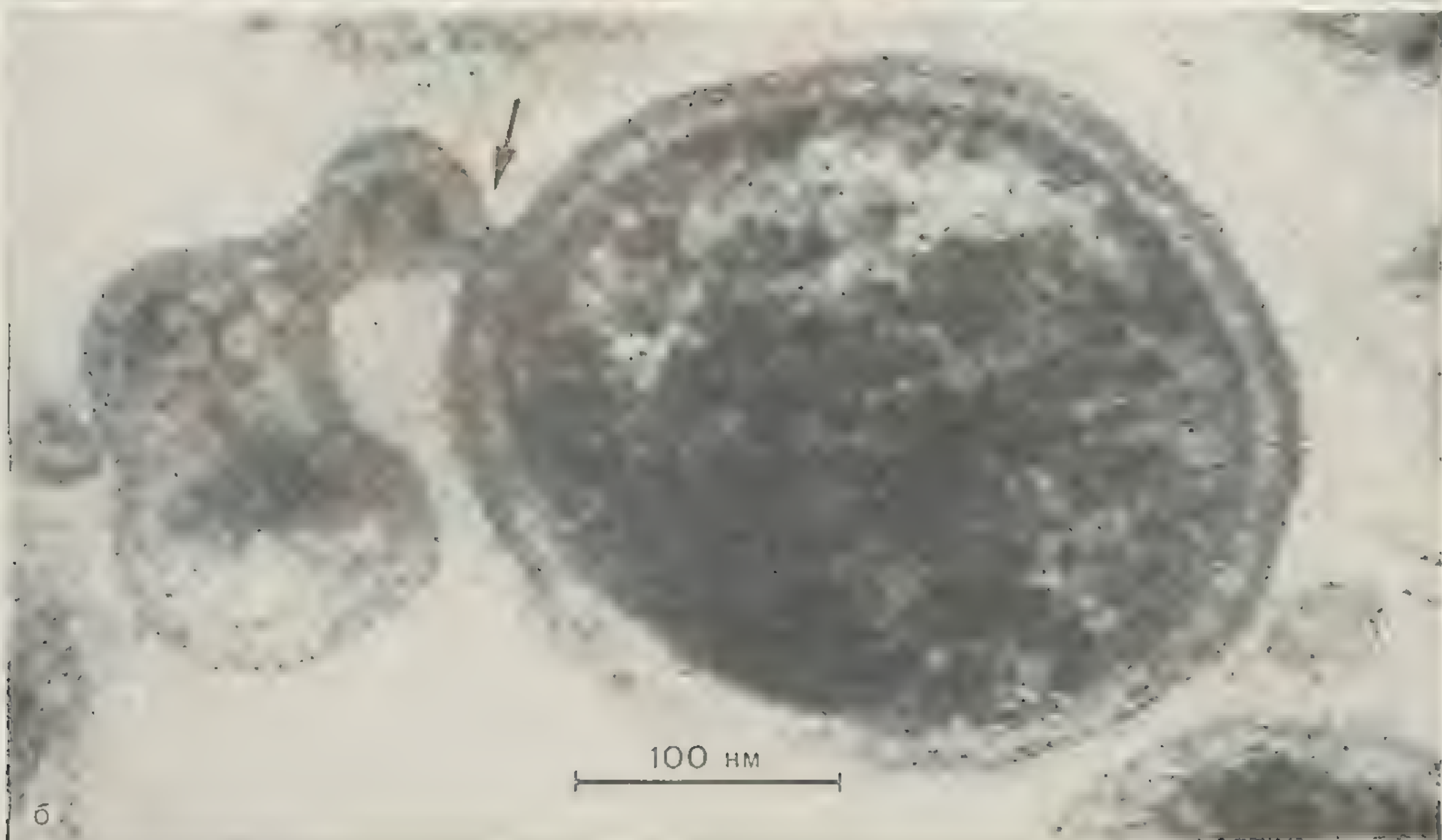
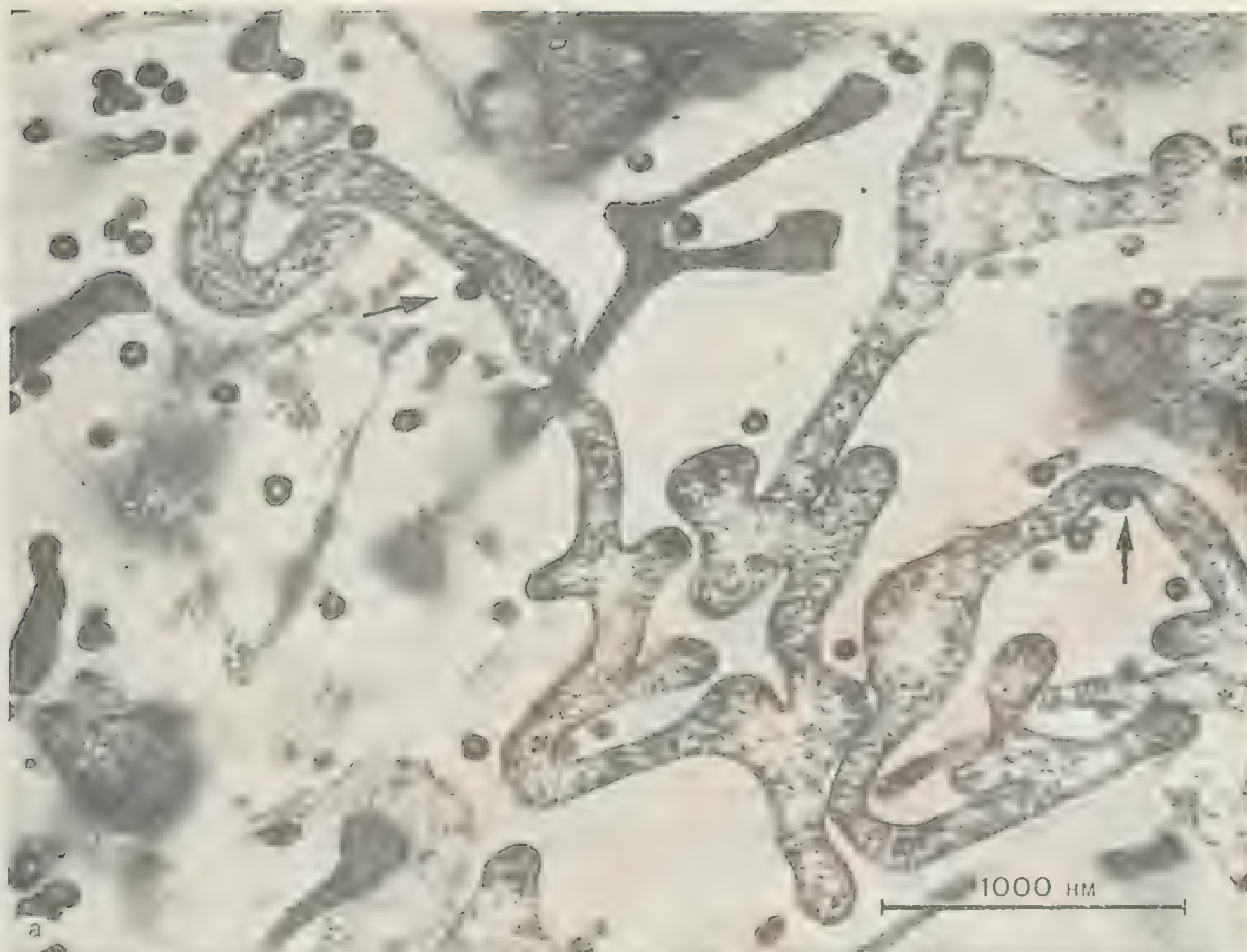


15. Взаимодействие онковирусов типа С
с бактериями (а, б) и микоплазмами (в, г).
а — ув. 60 000; б — ув. 120 000; в, г — ув. 120 000.



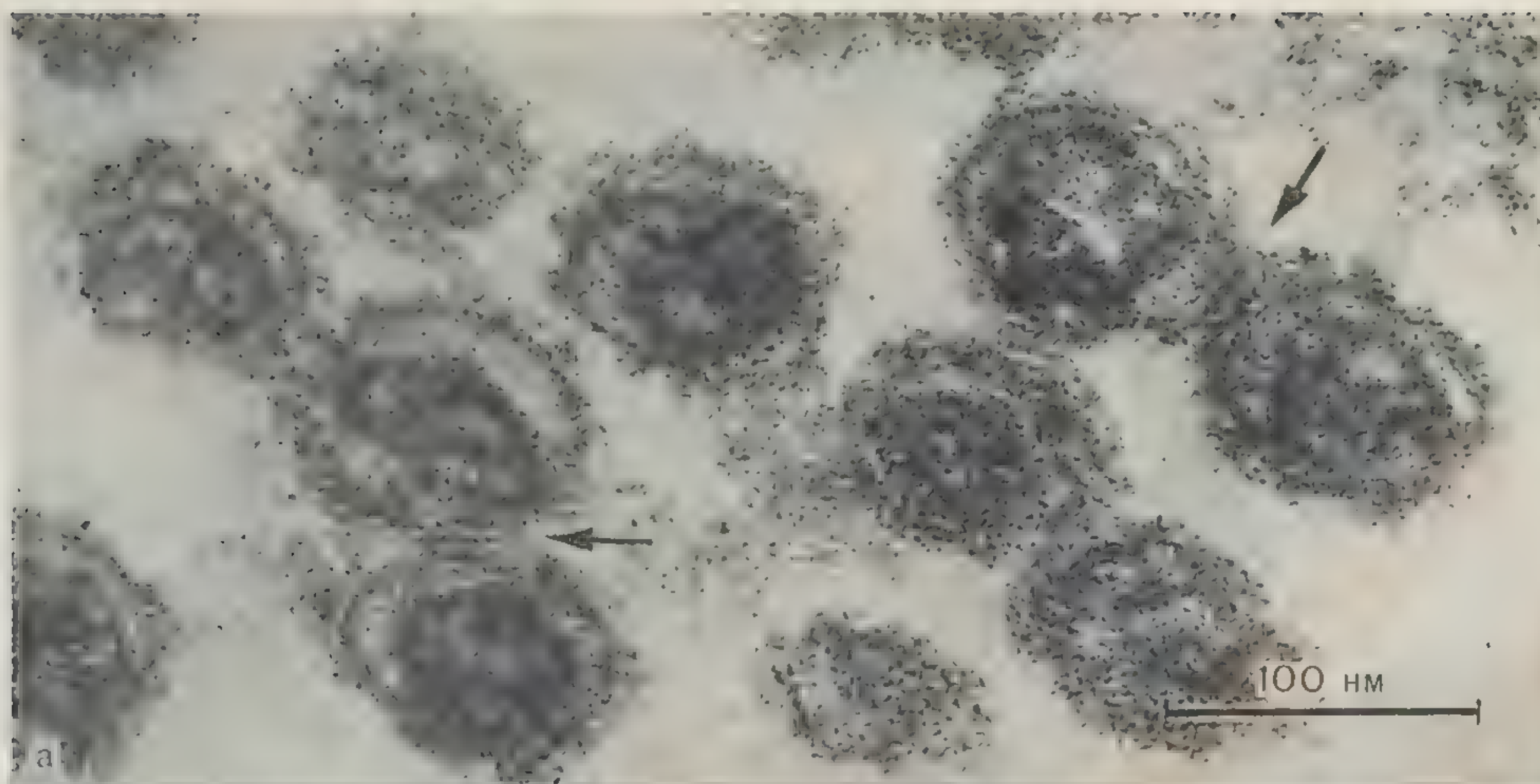
16. Адсорбция онковирусов на микоплазмах и гальпрониях.

а — адсорбция на вегетативных формах микоплазм. Ув. 40 000; б — на элементарном тельце гальпронии, выделенной от больного с синдромом Рейтера. Видна адсорбция аномальной формы онковируса. Ув. 300 000. Стрелкой показана адсорбция онковирусов.



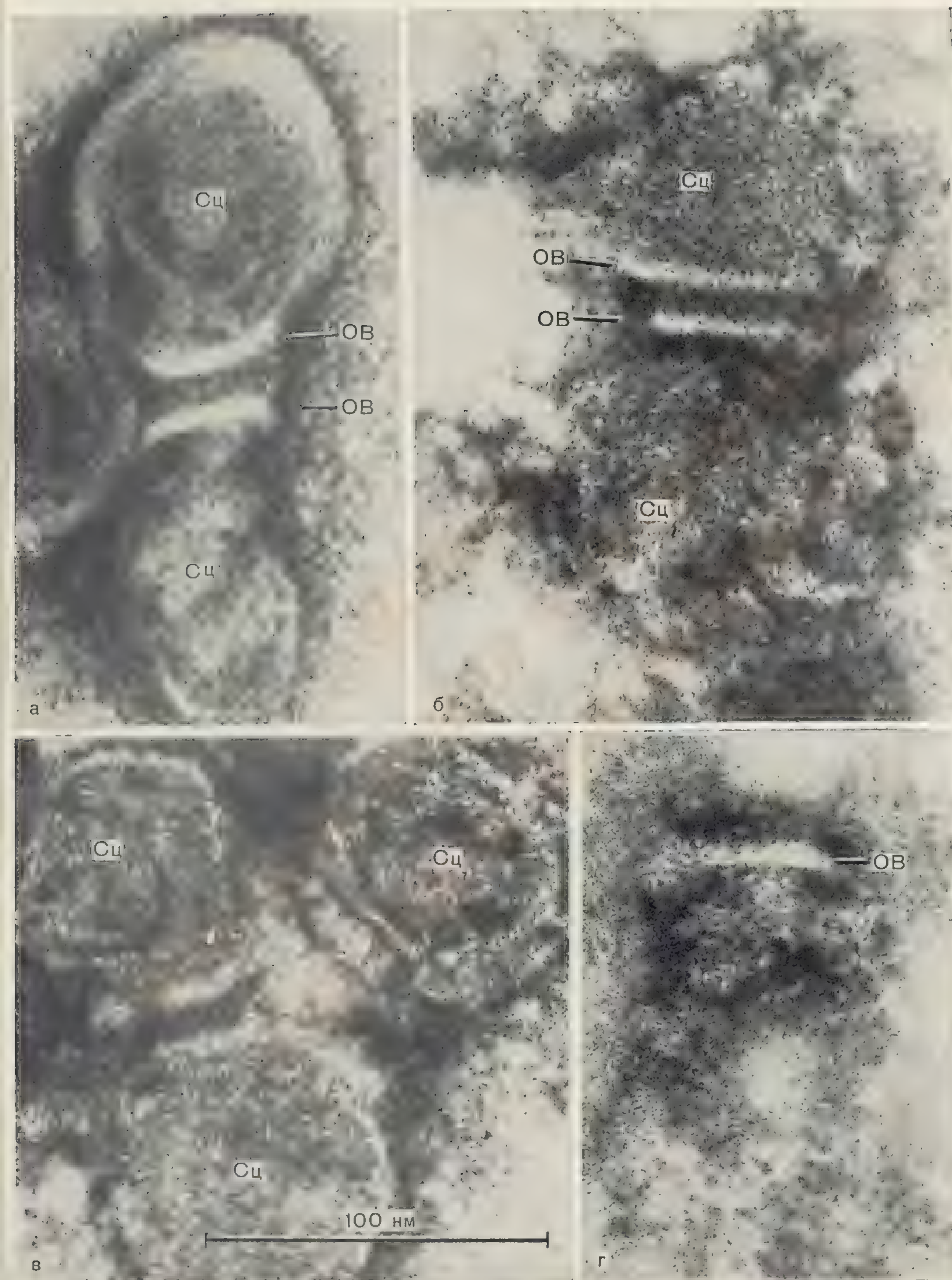
17. Взаимодействие внеклеточных онковирусов
типа С.

а, б — ультратонкие срезы онковирусов
лимфосаркомы мышей (штамм ОП). Ув. 300 000;
в, г — негативно контрастированный препарат вируса
лейкоза Гросса, в — ув. 300 000; г — ув. 600 000.
Стрелками показаны участки оболочек вирионов,
ориентированные параллельно друг другу.



18. Ультраструктура зон контакта между
внеклеточными онковирусами типа С
на различных стадиях разрушения вирионов
(негативное контрастирование).

ОВ — оболочка вириона; Сц — сердцевина. Ув. 600 000.



па А(С) в «зрелые» онковirusы типа С, вероятно, чрезвычайно велика: 30—40% зрелых форм были найдены в популяции вируса миеобластома птиц уже через 3½ мин после сбора вируса из культуральной жидкости культуры лейкозных миеобластов цыпленка [Korb et al., 1976]. По мнению ряда авторов, дифференцировка онковirusов типа А(С) в тип С может идти уже в момент почкования вируса на поверхности клетки [Быковский А. Ф. и др., 1976]. В связи с чрезвычайно высокой скоростью внеклеточной дифференцировки онковirusов обнаружить переходные формы при электронно-микроскопических исследованиях долгое время не удавалось. На рис. 13 представлены электронно-микроскопические фотографии онковirusов, являющиеся, по нашему мнению, переходными формами от сферического нуклеоида типа А к электронно-оптически плотному нуклеоиду типа С.

Общее время онтогенетического цикла развития онкогенных РНК-геномных virusов чрезвычайно мало. Репликация вируса саркомы Рауса занимает менее 1 ч [Rabotti et al., 1969; Michelson-Fiske et al., 1973]. Репликативный цикл вируса опухолей молочных желез мышей в клетках опухолей молочных желез мышей BaLB/cf C₃H занимает от 2 до 4 ч [Sarkar et al., 1977].

Обобщенная схема основных этапов онтогенетического цикла развития абстракт-

ного онкогенного РНК-геномного вируса представлена на рис. 14.

Взаимодействия онковirusов во внеклеточном пространстве. Отделившиеся от клетки онковirusы взаимодействуют с различными органоидами и фрагментами клеток, отделившимися от них, например, в результате плазматоза, клеточной секреции, процесса естественной деструкции отдельных клеток и т. д. При этом онковirusы либо адсорбируются на поверхности этих структур, либо локализуются внутри них (например, цистерны эндоплазматического ретикулума, внутриклеточных вакуолей, лизосом, митохондрий и т. д.).

Большой интерес представляет взаимодействие онковirusов с другими микроорганизмами — бактериями, микоплазмами и галлпротиями (рис. 15, 16). При этом онковirusы не только адсорбируются на этих микроорганизмах, но, по-видимому, могут и проникать внутрь некоторых из них [Миллер Г. Г., 1979].

При электронно-микроскопическом изучении методом негативного контрастирования и ультратонких срезов некоторых онковirusов (вирус Гросса, вирус ОП) было обнаружено, что в зоне контакта соседних вирионов их оболочки располагаются параллельно друг другу (рис. 17). При негативном контрастировании (рис. 18) в зоне межвирусных контактов при большом увеличении удастся выявить тяжки, ориентированные перпендикулярно поверхности вирионов.

IV. ОНКОВИРУСЫ ТИПА А

Онковирусы типа А чрезвычайно широко распространены в природе. Они обнаружены *in vivo* или *in vitro* в клетках практически всех исследованных животных (от рыб до человека включительно). В частности, онковирусы типа А наблюдали в клетках тимуса обычных и стерильных мышей [de Harven, 1964], в нормальных тканях мышей [Gross, Feldman, 1970], в предстательной железе крысы [Zeller et al., 1978], в плацентах павианов [Kalter et al., 1973] и человека [Kalter et al., 1973; Vernon et al., 1974].

Как уже отмечалось (гл. I), онковирусы типа А существуют либо самостоятельно (например, цистерनावирусы типа А или митохондриальные вирусы типа А), либо в ассоциациях с онковирусами типов В, С и D. При этом процент внеклеточных вирионов типа А обычно невелик и составляет в среднем 10—20. Однако иногда преобладают вирионы типа А.

Описаны системы, в которых встречаются только вирионы типа А. Так, изучение человеческих клеток EsP-1 показало, что они продуцируют только вирионы типа А и не содержат частиц типа С [de Harven, Sato, 1973]. Wong, McCarter (1974), исследуя температурочувствительные мутанты вируса лейкоза Молопи, обнаружили, что при переносе вируспродуцирующих клеток в перmissive температуру культивирования в среде появлялись вирионы типа А, что совпадало с резким увеличением инфекционного титра.

По предположению ряда исследователей [Sarkar, Moor, 1968; Novinski et al., 1970; Sarkar et al., 1971; Sarkar et al., 1972], внутренний слой сердцевины (нуклеокапсид по терминологии авторов) онковирусов типа А(В) и А(С) представляет собой спираль РНП, упакованную в виде полый суперспирализованной сферы.

Авторы считают, что спираль РНП может состоять из одиночной нити (с шагом спирали 6,3 нм) или из двойной нити (с шагом спирали 12,6 нм). В любом случае длина РНП одна и та же — 3,7 мкм.

Цистерनावирусы типа А описаны в клет-

ках опухолей мышей: в первичных и трансплантируемых плазматочных опухолях [Dalton, Potter, 1969; Kuff et al., 1972] и опухолях молочных желез [Gay et al., 1970; Smith et al., 1970] мышей различных линий; в клетках асцитного рака Эрлиха [Adams, Prince, 1957; Kodama, Kodama, 1973]; в меланоме [Channing et al., 1965]; опухолях легких [Bocciarelli, Ribacchi, 1972]; в папилломах и карциномах, индуцированных метилхолантроном [Kakefuda et al., 1970]; саркомах, возникших после введения ипородных тел [Johnson et al., 1973a]; у мышей, больных лейкозом [Feldman, Gross, 1964]. Частицы наблюдали и в клеточных культурах L-клеток [Dales, Hovatson, 1961; Grimlay et al., 1973], опухолей молочных желез [Dmochowski, 1970], нейробластом [Kuff et al., 1972], клеток LL [Никольская Т. А. и др., 1968, 1973]; клетках лимфосаркомы мышей ОП [Быковский А. Ф. и др., 1973].

Внутрицитарные онковирусы типа А описаны и в клетках животных других видов: при лейкемии морских свинок [Opler, 1967; Nadel et al., 1967], в культуре лейкемических клеток морских свинок [Gross, Feldman, 1970], в клетках карциномы кошек [Feldman, Gross, 1971], в культуре клеток фибромы песчанок (но не в первичной опухоли) [Tumilowicz, Cholan, 1971], крыс [Novikoff, цит. по Yang, Wivel, 1974]; в культуре крысиных клеток, обработанных BdUR [Oboshi et al., 1973]; в HeLa-подобных клетках человека ТК [Мартыненко В. Б., 1975]; в перевиваемых клетках человека, инокулированных кровью больных лейкозом [Анджапаридзе О. Г. и др., 1973]. Уникальная морфология свойственна цистерनावирусу типа А, обнаруженному в кистозной аденоме молочной железы леопарда. Вирус имел диаметр 115—125 нм; на внутренней поверхности частиц локализовались сферические гранулы диаметром 13 нм [Chandra et al., 1975]. У морских свинок обнаружено два типа цистерनावирусов: преобладающий тип диаметром 90 нм с промежуточным слоем; реже встречаются

частицы диаметром 70 нм, которые морфологически сходны с цистернавирусами мышей. Подобные вирусы обнаружены и в печени морских свинок [Dunkel et al., 1974]. Внутрицистернальные онковirusы типа А описаны в костных опухолях новозеландских черных крыс, индуцированных вирусом Молони. Цистернавирусы типа А диаметром 90—120 нм локализовались только в гранулярном эндоплазматическом ретикулуме; нуклеониды имели диаметр 70 нм и состояли из двух концентрических слоев [Ohtsuki et al., 1978].

Цистернавирусы типа А обнаружены и в клетках практически здоровых животных: у мышей различных линий [Feldman, Gross, 1964; Bocciarelli, Wivel, Smith, 1971; Ribacchi, 1972], у поворожденных диких мышей [Gardner et al., 1971], в ооцитах и в раннем эмбриогенезе

19. Варианты внутриклеточной локализации цистернавирусов типа А и А'.

1, 2 — почкование цистернавирусов типа А (ЦВ-А) в перинуклеарной зоне; 3, 4 — почкование цистернавирусов типа А' (ЦВ-А') в перинуклеарной зоне; 5, 6 — почкование ЦВ-А в вакуолях аппарата Гольджи; 7, 8 — почкование ЦВ-А в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума; 9—10 — почкование ЦВ-А' в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума; 11 —

ретикулярно-трубчатые структуры; 12—13 — почкование ЦВ-А в цистернах агранулярного эндоплазматического ретикулума; 14 — локализация ЦВ-А внутри пористой (кольчатой) пластинки; 15 — поры кольчатой пластинки; 16 — локализация ЦВ-А внутри ретикулярно-ампулярно-кристаллоидной структуры; 17 — ретикулярно-ампулярная структура; 18 — ретикулярно-кристаллоидная структура. ЯК — ядро клетки, П — поры ядерной оболочки.



здоровых мышей [Calarco, Szollosi, 1973; Chase, Piko, 1973; Biczysko et al., 1973], ооооиях морских свинок [Anderson et al., 1972]. Плавающая плотность внутрицистернальных частиц типа А составляет 1,22 г/мл в градиенте сахарозы [Kuff et al., 1968; Yang, Wivel, 1973]. При удалении паружной оболочки дезоксихолатом плавающая плотность увеличивается до 1,25 г/мл [Kuff et al., 1968]. С внутрицистернальными частицами типа А связана активность обратной транскриптазы [Willson, Kuff, 1972; Yang, Wivel, 1974]. Согласно последним данным Kuff и соавт. (1978), цистернавирuсы мышей *Mus. cervicolor* содержат 35S и 28S РНК и основной белок с молекулярной массой 73 000.

Wong-Staal и соотр. (1975) обнаружили, что в цистернавирuсах локализуется эндогенная РНК-зависимая ДНК-полимераза и высокомолекулярная 35S РНК, которая содержит поли(А) приблизительно из 220 нуклеотидов. Авторы предположили, что внутрицистернальные онковирuсы типа А представляют собой либо результат экспрессии дефектного (пока неизвестного) онковирuса типа С, либо продукт секреторной деятельности клетки. В последнем случае из клетки таким образом, возможно, выделяются фрагменты ДНК, а внутрицистернальные частицы являются переносчиками информации от клетки к клетке.

На рис. 19 схематически изображена субмикроскопическая организация вирионов цистернавирuсов типов А и А', а также основные варианты их внутриклеточного морфогенеза.

Цистернавирuсы типа А обнаружены в интерфазных (рис. 20) и делящихся клетках, в зоне кольчатых (пористых) пластинок, GERL-комплекса или аппарата Гольджи, а также внутри цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, содержащих ретикулярно-трубчатые структуры. Значительно реже цистернавирuсы удавалось обнаружить в цистернах агранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 21).

Также достаточно редко цистернавирuсы выявляются в перинуклеарной зоне и чрезвычайно редко — внутри ядра клетки непосредственно в нуклеоплазме (рис. 22).

Цистернавирuсы типа А' так же, как и цистернавирuсы типа А, выявляются в перинуклеарной зоне, в цистернах эндоплазматического ретикулума клеток мыши (рис. 23), человека (рис. 24) и кошки (рис. 25). Описываемый вид цистернавирuсов впервые обнаружен либо вблизи (см. рис. 24), либо внутри ретикулярно-кристаллоидных структур, а также ретикулярно-ампулярных или комплексных ретикулярно-кристаллоидо-ампулярных структур. Как уже отмечалось, цистерна-

вирuсы выявлены в плацентах ряда животных, в частности мыши.

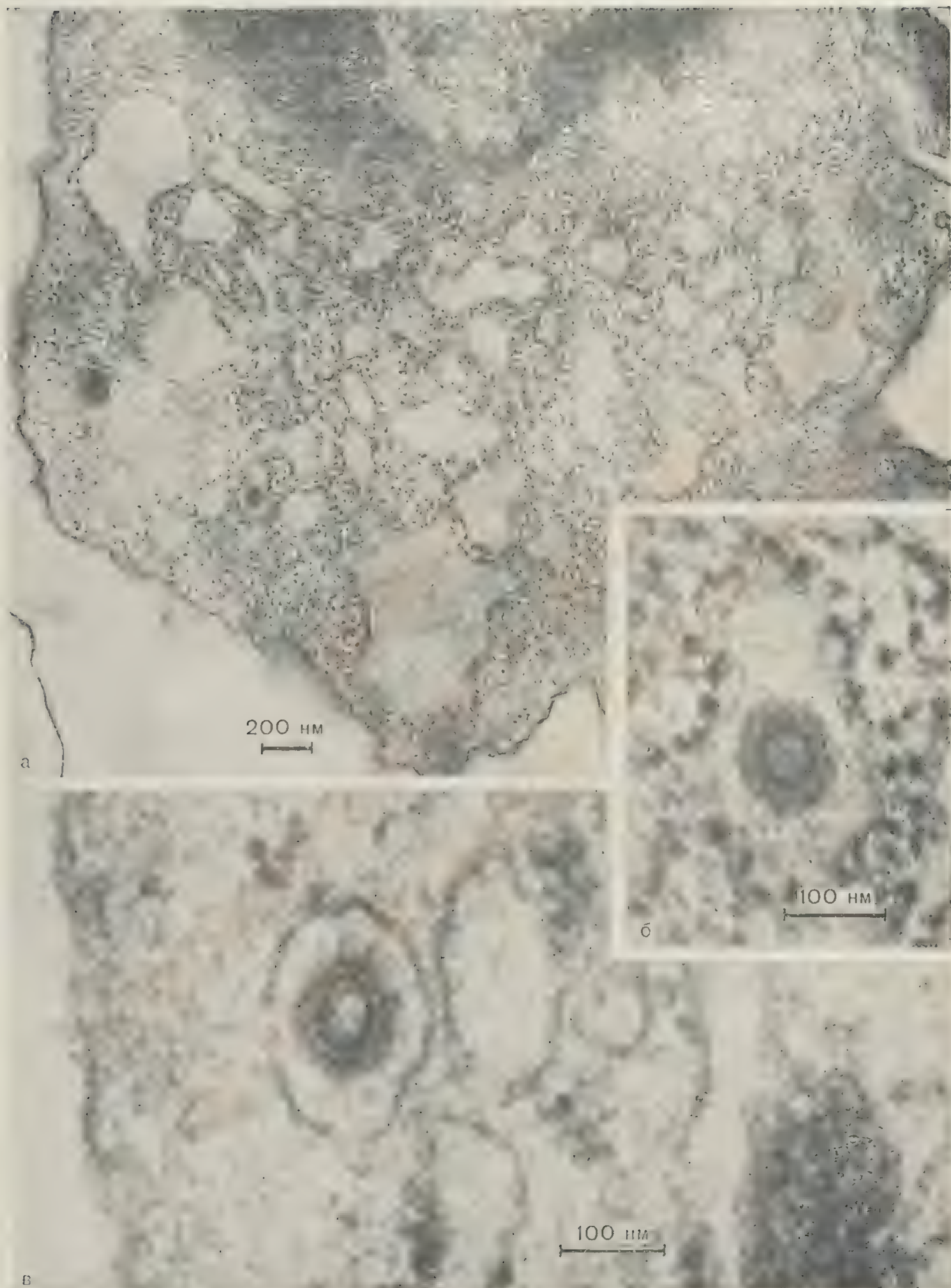
Вирионы цистернавирuсов повторяют общий план супрамолекулярной организации онковирuсов типа А. На электронно-микроскопических фотографиях, выполненных при достаточно высоком разрешении, в ультратонких срезах сердцевин цистернавирuсов выявляются осmioфильные тяжи толщиной 2,5 нм (рис. 26). Тяжи 2,5 нм и образующие их нити диаметром 0,6—0,7 нм достаточно достоверно выявляются в структуре очищенных сердцевин цистернавирuсов (рис. 27, 28) методом негативного контрастирования.

Вначале считали, что структуры, сходные с внутрицистернальными частицами типа А, никогда не обнаруживаются за пределами клеток. Однако в последние годы эта точка зрения была поколеблена. Vernon и соотр. (1977) считают возможным, как ранее предполагали Feldman, Gross (1970), выход вирuса из цистерн гранулярного ретикулума во внеклеточное пространство в процессе экзоцитоза. Подобного взгляда придерживаются Dahlberg и соавт. (1977). В процессе выделения из клетки внутрицистернальный вирuс типа А проходил такую же стадию «созревания», как описано ранее для онковирuсов типов А, ассоциированных с онковирuсами типов В и С. Почкования вирuса на поверхности опухолевых клеток L₂C или внутрицитоплазматических вакуолей никогда не наблюдалось. Большие внеклеточные скопления вирuса располагались среди фрагментов распавшихся клеток.

На основании этих исследований, а также единичных находок в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума частиц, по морфологии напоминающих зрелые внеклеточные вирионы, Feldman, Gross (1970) и Vernon и соавт. (1977) предположили возможность созревания вирuса в цистернах эндоплазматического ретикулума и выделения цистернавирuсов из клетки.

Митохондриальные онковирuсы типа А
аходили в клетках животных различных видов: в культуре клеток гадюк [Lunger, Clark, 1973, 1974], крыс [Schumacher et al., 1973], хомяков [Gazzolo et al., 1969] и в человеческих миеобластах при острой лейкемии [Schumacher et al., 1972]. Как правило, эти системы были инфицированы онковирuсами. Появление вирионов типа А внутри митохондрий в культуре крысиных эмбриональных фибробластов наблюдалось после инфицирования их вирuсами саркомы или лейкемии Молони [Schumacher et al., 1973]. Хомячковые клетки обрабатывали различными штаммами вирuса саркомы Рауса — Шмидт — Руппин [Gazzolo et al., 1969] или Брайен [Cesarini, de Micco, 1972]. Культура кле-

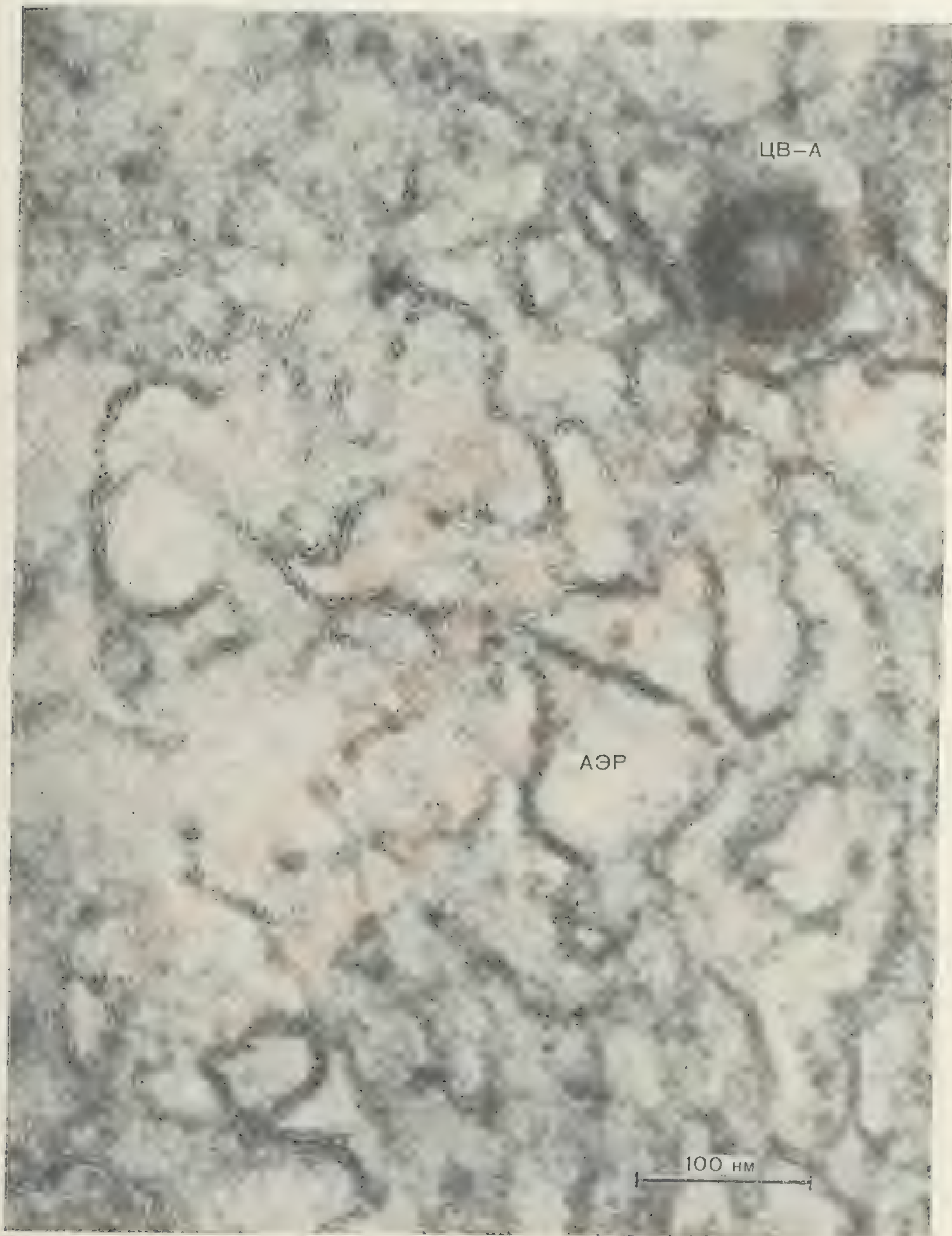
20. Цистерновирусы типа А в плазматической
клетке (а, б) и лимфобласте (в) мышцы.
а — ув. 35 000; б, в — ув. 180 000.



21. Цистернавирус А. (ЦВ-А). Ув. 300 000.

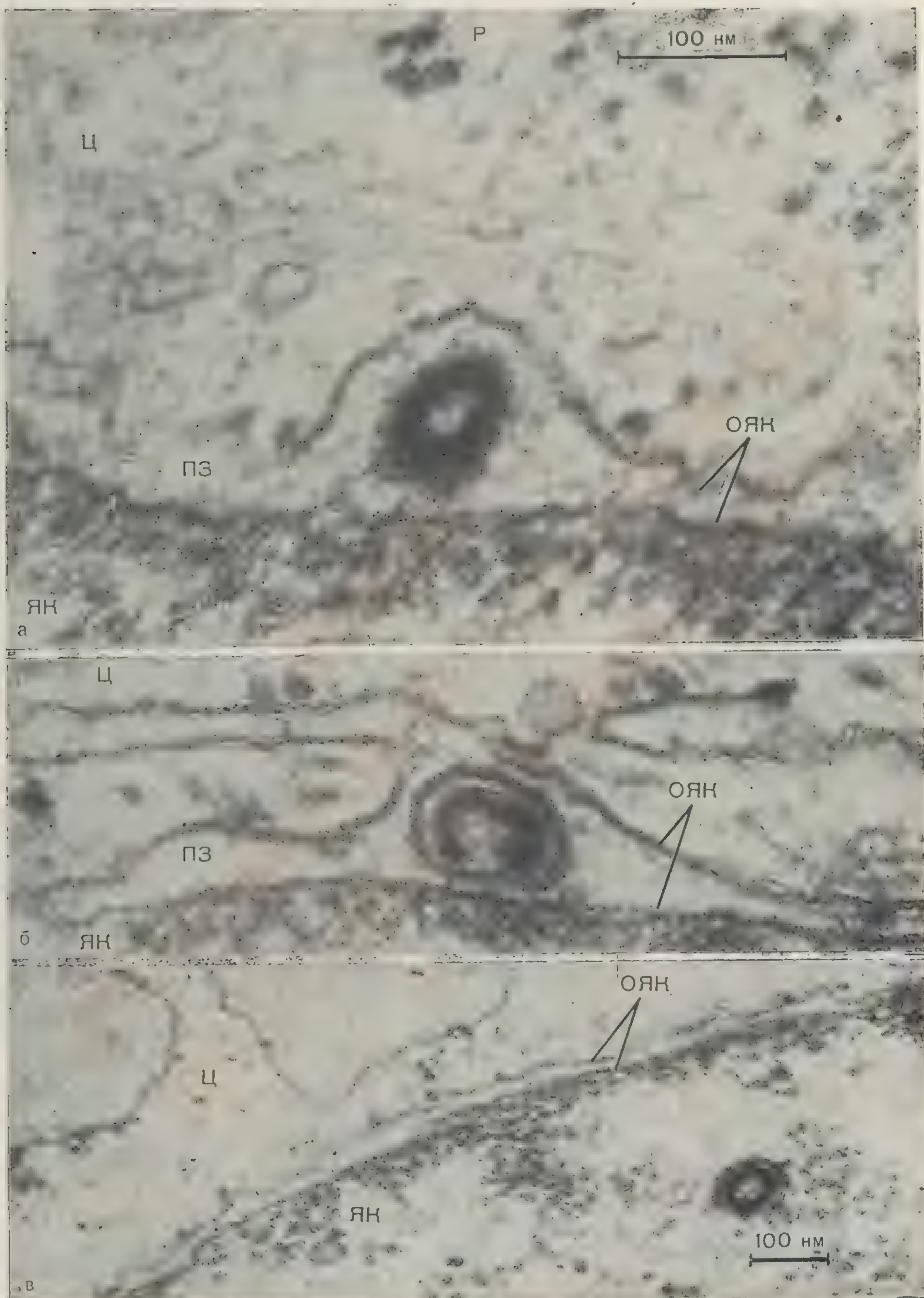
ЦВ — А — цистернавирус типа А;

АЭР — агранулярный эндоплазматический ретикулум.



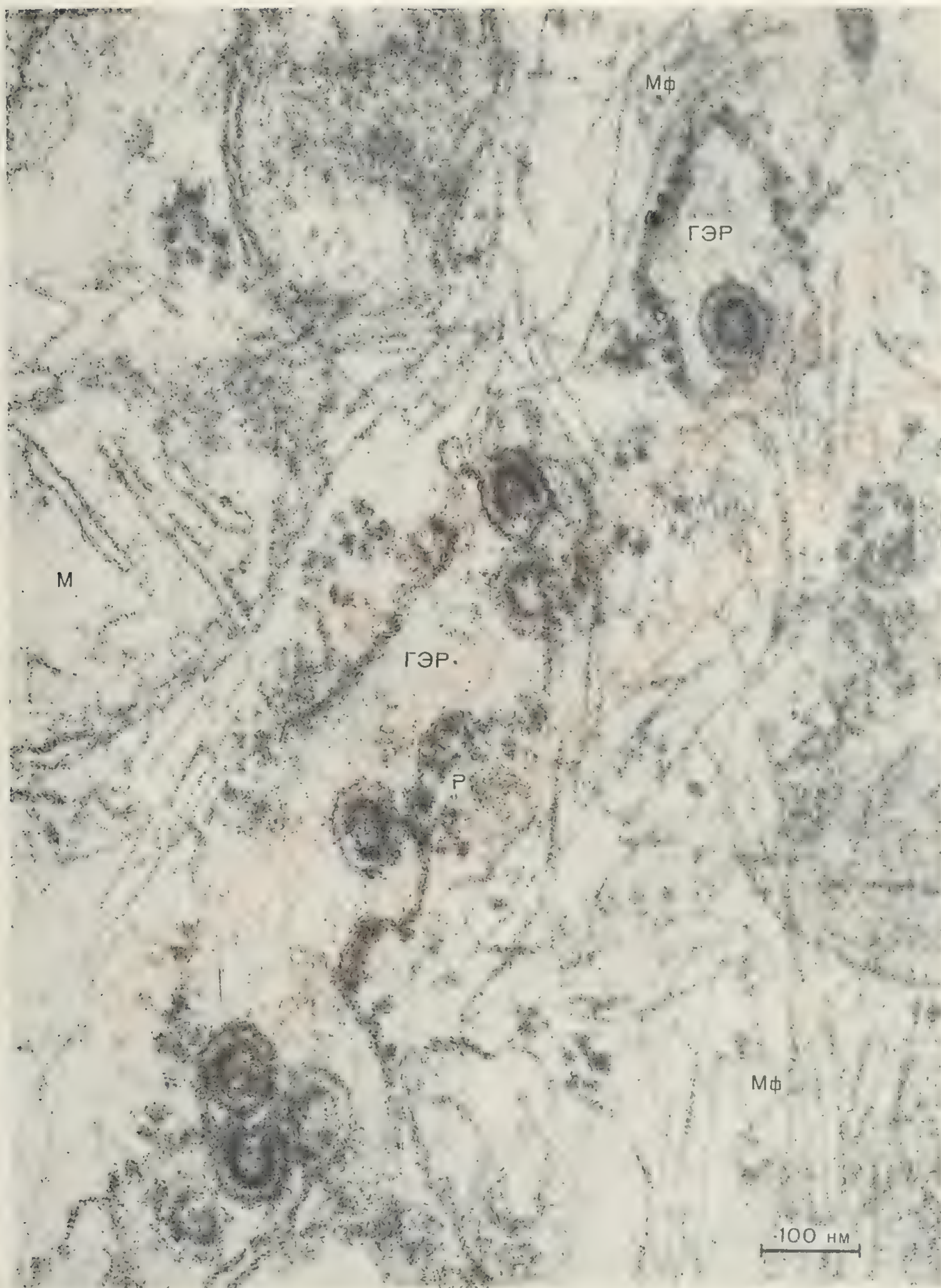
22. Локализация онковирусов в ядре клетки.

а — цистернавирус типа А в перинуклеарной зоне ядра L-клетки; б — цистернавирус типа А' в перинуклеарной зоне клетки ТК. Ув. 300 000; в — онковирус типа А в нуклеоплазме клетки. Ув. 140 000. Ц — цитоплазма; Р — рибосомы; ПЗ — перинуклеарная зона; ЯК — ядро клетки; ОЯК — оболочка ядра клетки.



23. Цистернавирусы типа А'. Ув. 180 000.

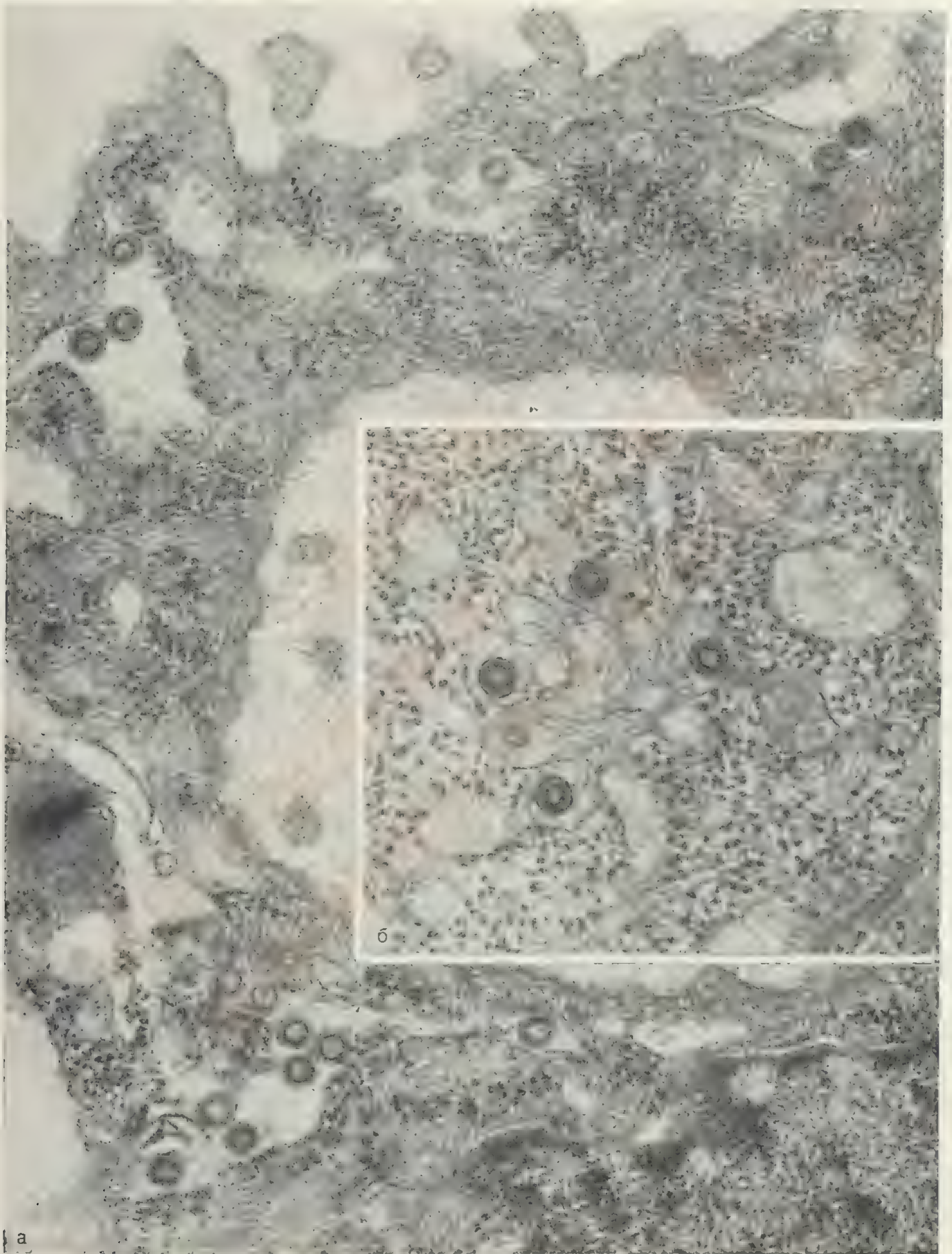
М — митохондрии; ГЭР — гранулярный
эндоплазматический ретикулум; Р — рибосомы;
МФ — микрофиламенты.



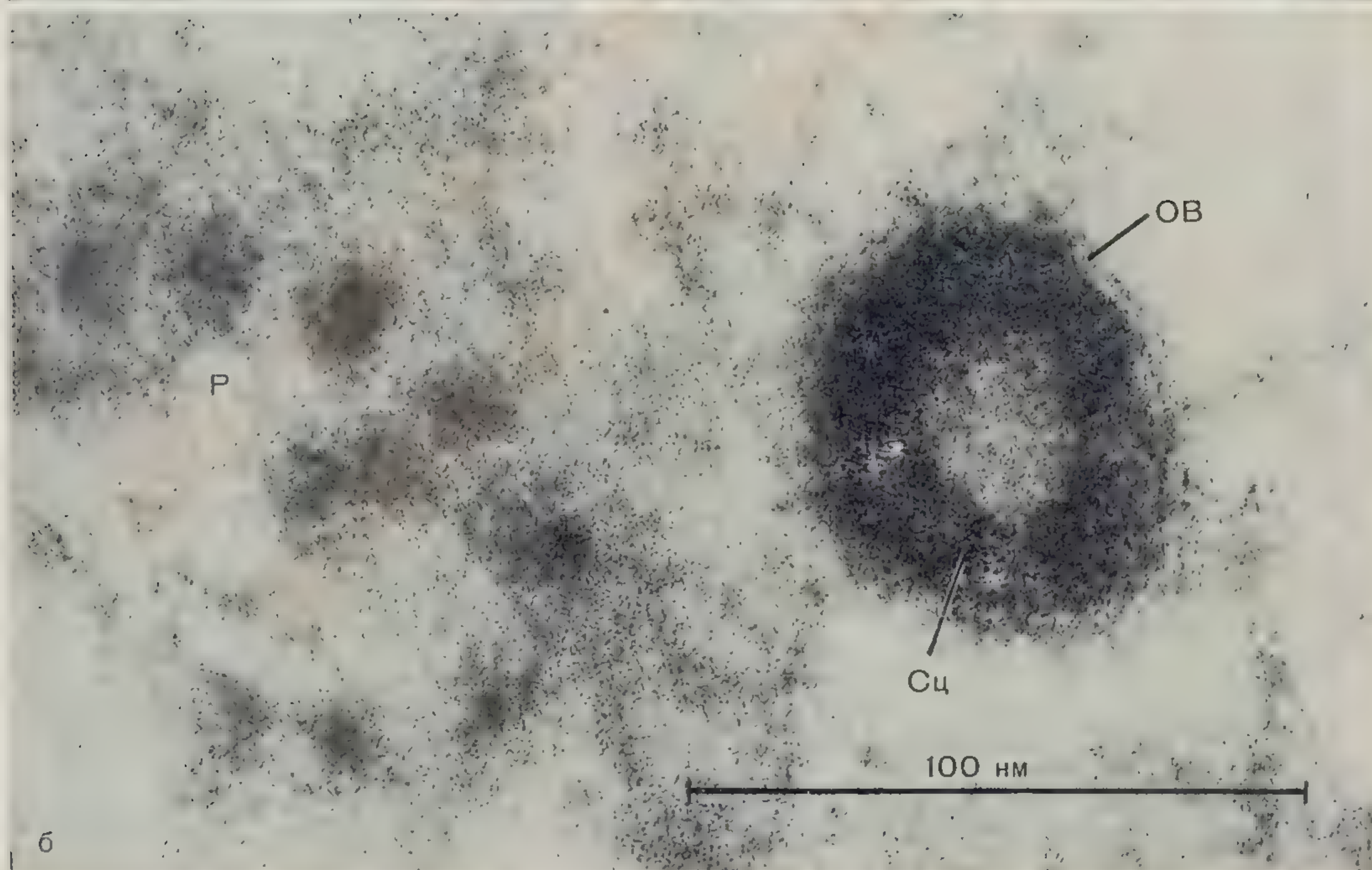
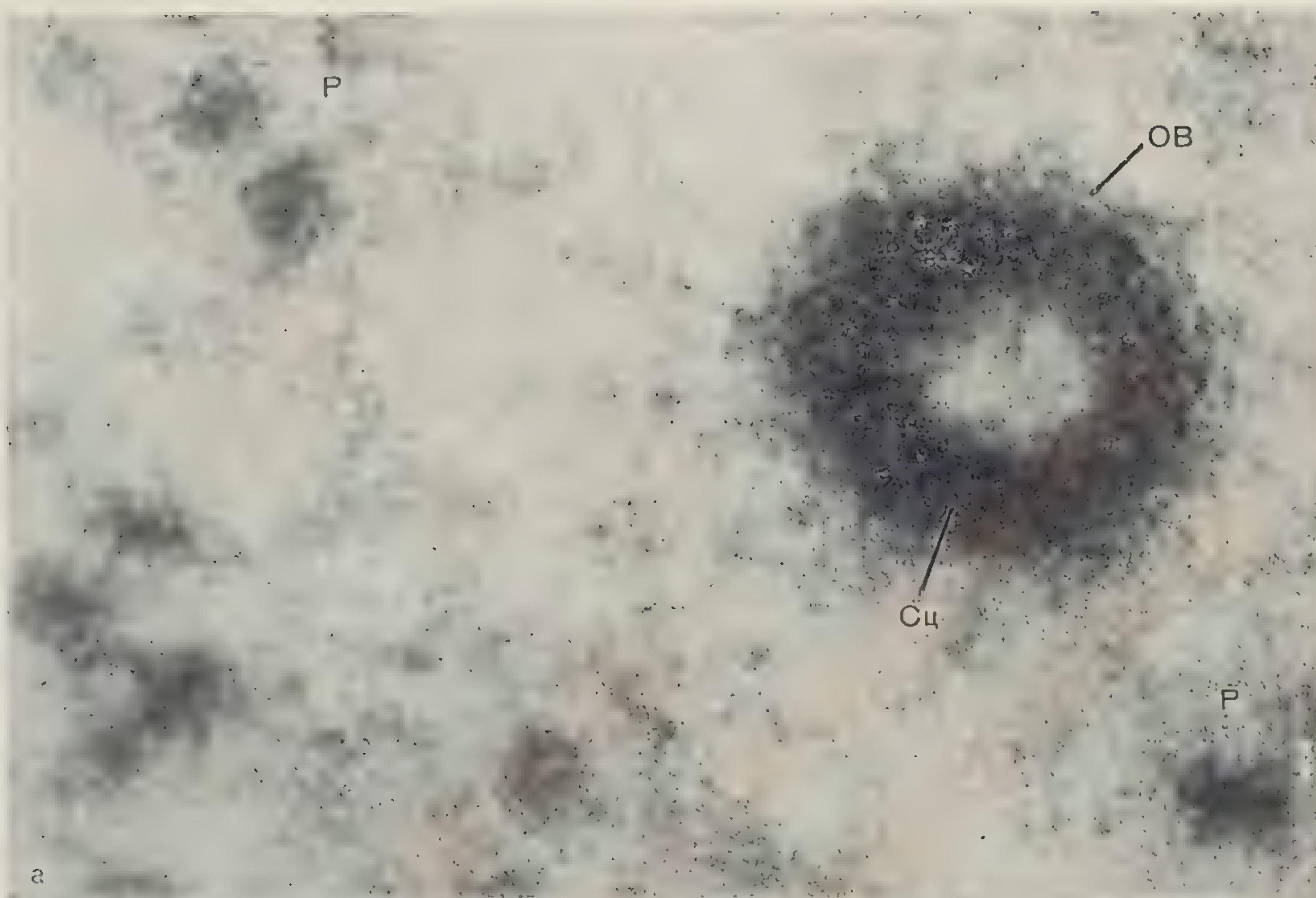
24. Расположение цистернавирусов типа А' (ЦВ-А') вблизи ретикулярно-кристаллоидных структур (РКС) в клетке ТК-24. Ув. 100 000.
ГЭР — гранулярный эндоплазматический ретикулум.



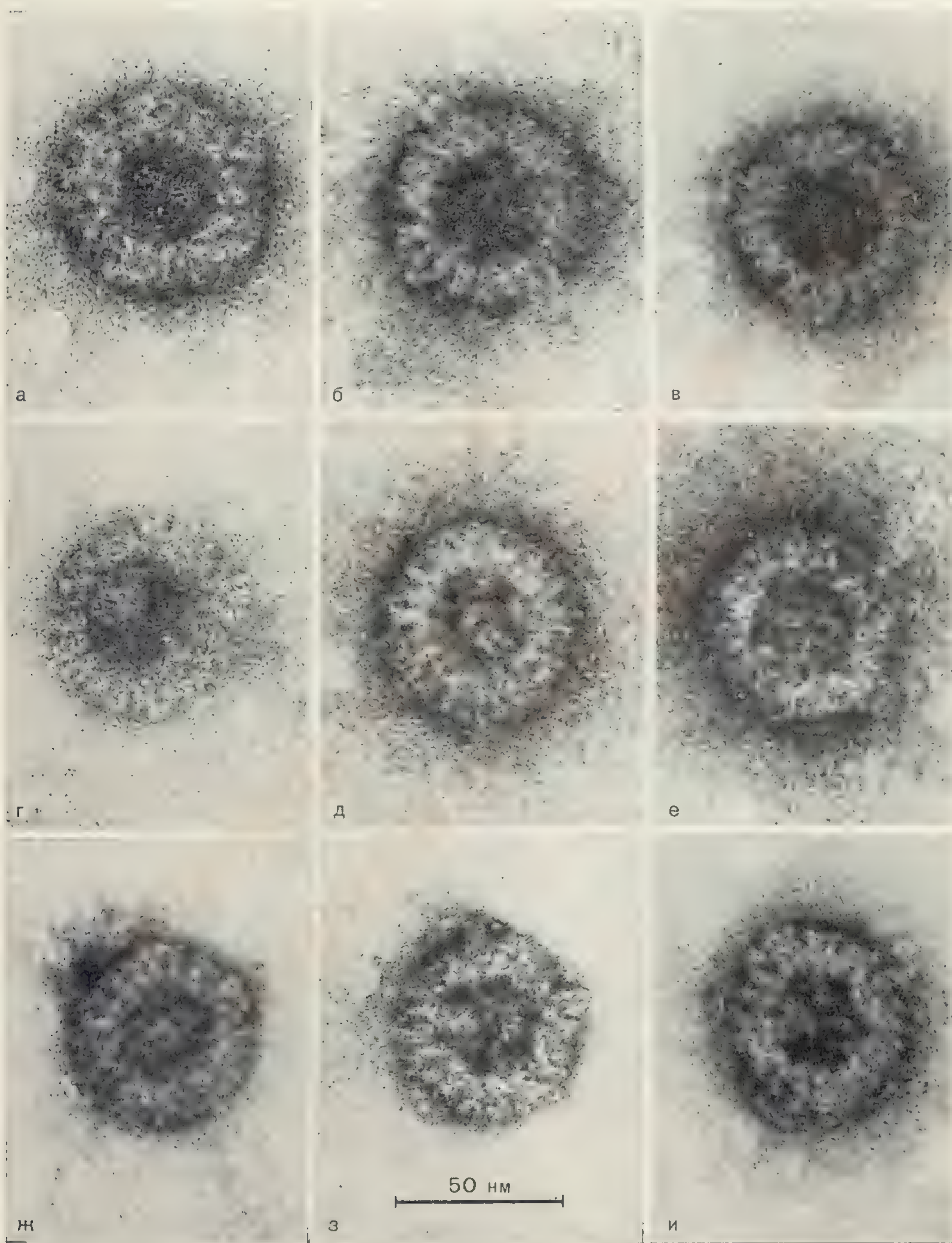
25. Скопление цистернавирусов типа А' в различных клетках (а, б) опухоли молочной железы кошки (фотография G. Seman). Ув. 90 000.



26. Цистернавирусы типа А (а, б) в L-клетках мыши
(ультратонкие срезы). Ув. 760 000.
ОВ — оболочка вируса; Сц — сердцевина; Р — рибосомы.



27. Структура сердцевин цистернавирусов типа А
(а—и), выделенных из L-клеток мыши
(негативное контрастирование). Ув. 600 000.





28. Тяжи РIII распавшихся сердцевин
цистернавирусов типа А (показаны стрелками).
а — ув. 600 000; б —ув. 5 000 000.

ток селезенки гадюки VSW получена от пресмыкающегося с эдематозной миксофибромой [Lunger, Clark, 1973], культура клеток GL-1 начала продуцировать внутримитохондриальные вирионы после инкубации с супернатантом из культуры клеток селезенки змеи с саркомой, продуцирующей онковирусы [Lunger, Clark, 1974].

В настоящее время существует лишь одна линия — VH-2, полученная от практически здорового животного (гадюки того же вида, от которой ведет свое начало линия VSW) [Lunger, Clark, 1974].

По данным Gazzolo, de The (1971), диаметр частиц составляет около 90 нм, диаметр электроно-оптически прозрачного центра — 30—40 нм. Частицы имеют структуру кольца с двумя концентрическими стенками, определялось в среднем 150—240 частиц на клетку. В большинстве случаев на срезе в одной митохондрии располагается одна частица, изредка наблюдали до 4 частиц.

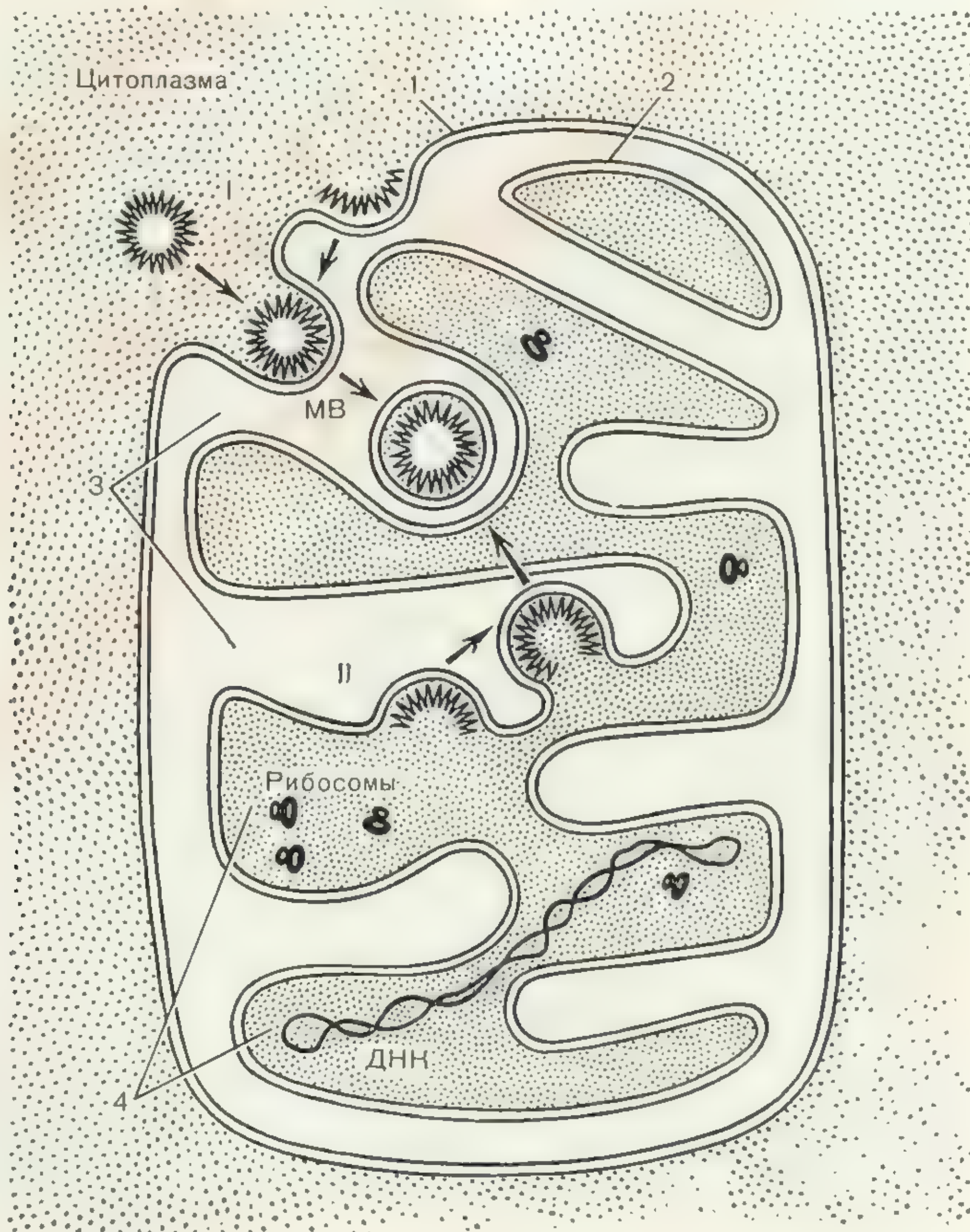
Диаметр внутримитохондриальных вирионов в клетках рептилий составлял

106 нм, диаметр сердцевинки — 75 нм [Lunger, Clark, 1973].

На рис. 29 схематически изображены основные этапы морфогенеза митохондриального вируса типа А.

Формирующиеся и сформированные (рис. 30) вирусные сердцевинки находятся в тесном контакте с поверхностью митохондрий и проникают в нее в процессе почкования. В этом случае в состав оболочки вириона входит фрагмент внешней мембраны оболочки митохондрии, а вирус локализуется в паружной камере митохондрий (рис. 31). В плоскости одного ультратонкого среза внутри одной митохондрии обнаруживается до 4—6 вирионов. Как правило, митохондриальные вирусы типа А локализуются в митохондриях с увеличенными кристами и электроно-оптически плотным митохондриальным матриксом либо в митохондриях с кристами измененной конфигурации.

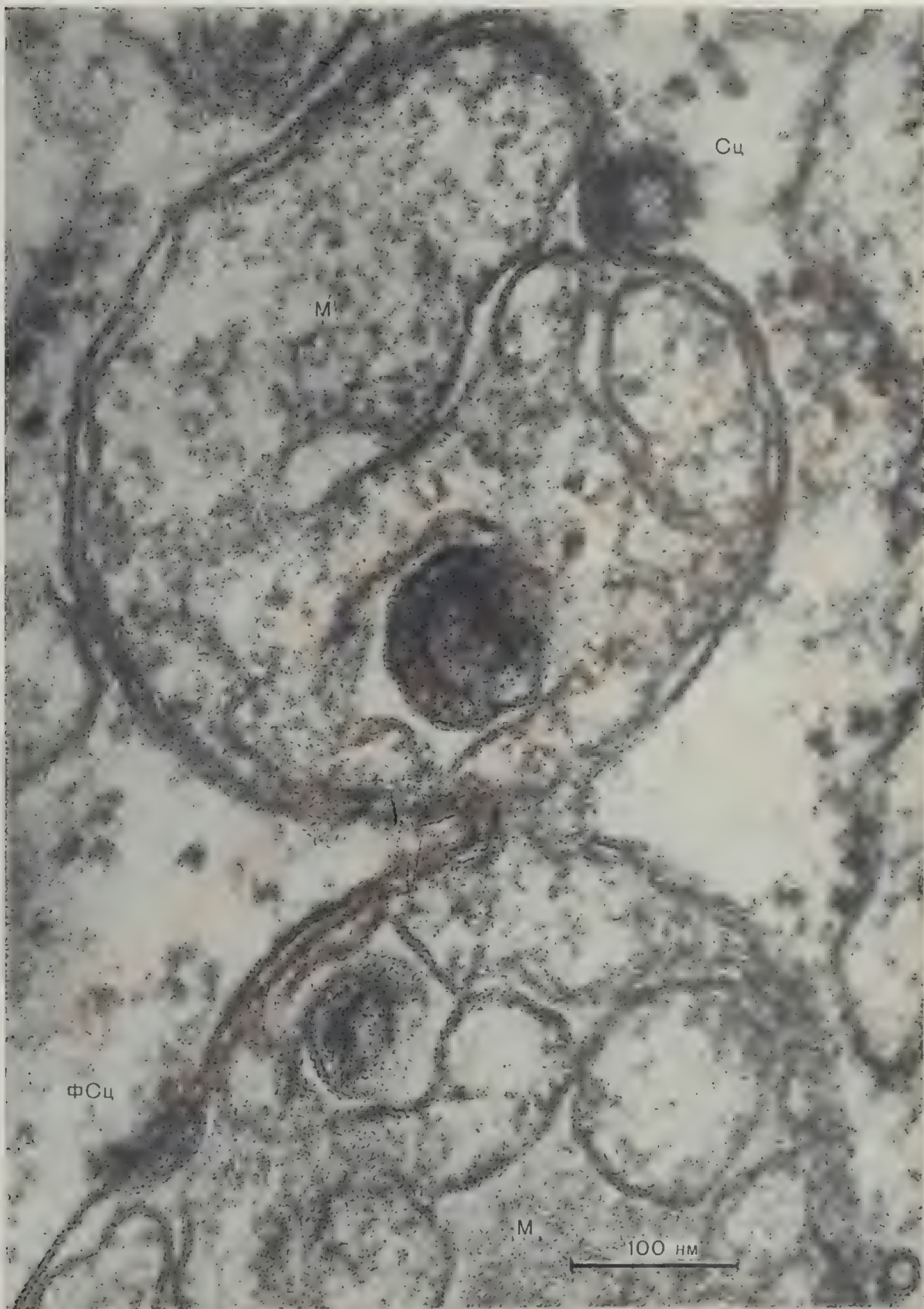
В отдельных митохондриях были обнаружены структуры, морфологически сходные с онковирусами типа С (рис. 32). Природа этих образований нуждается в дальнейшем изучении.



29. Варианты формирования внутримитохондриальных онковирусов (MB) типа А (схема).

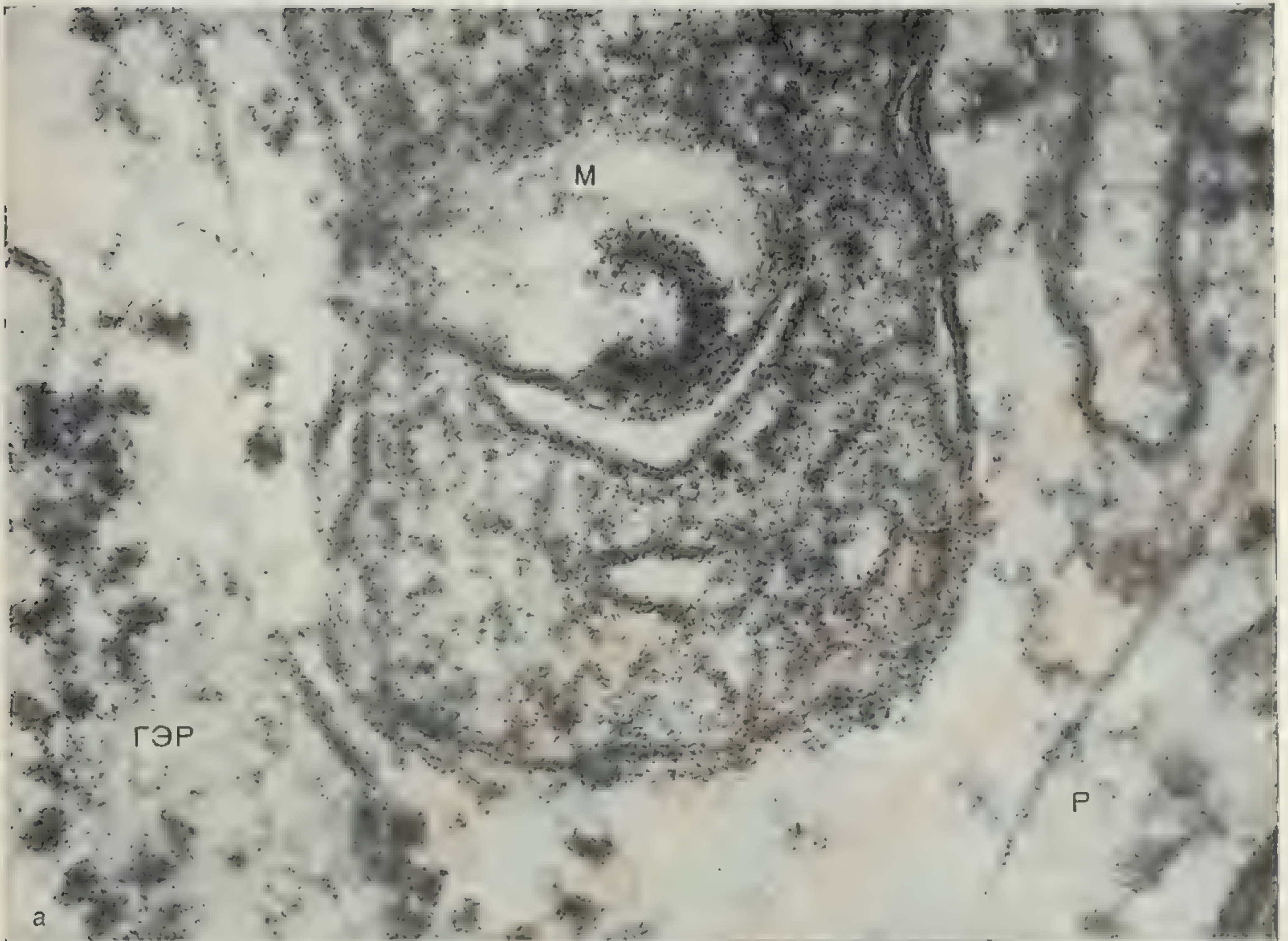
I — последовательные этапы почкования онковируса на наружной мембране митохондрии; II — последовательные этапы предполагаемого почкования онковируса на внутренней мембране митохондрии.
1 — наружная мембрана митохондрии; 2 — внутренняя мембрана митохондрии; 3 — паружная камера; 4 — внутренняя камера (митохондриальный матрикс).

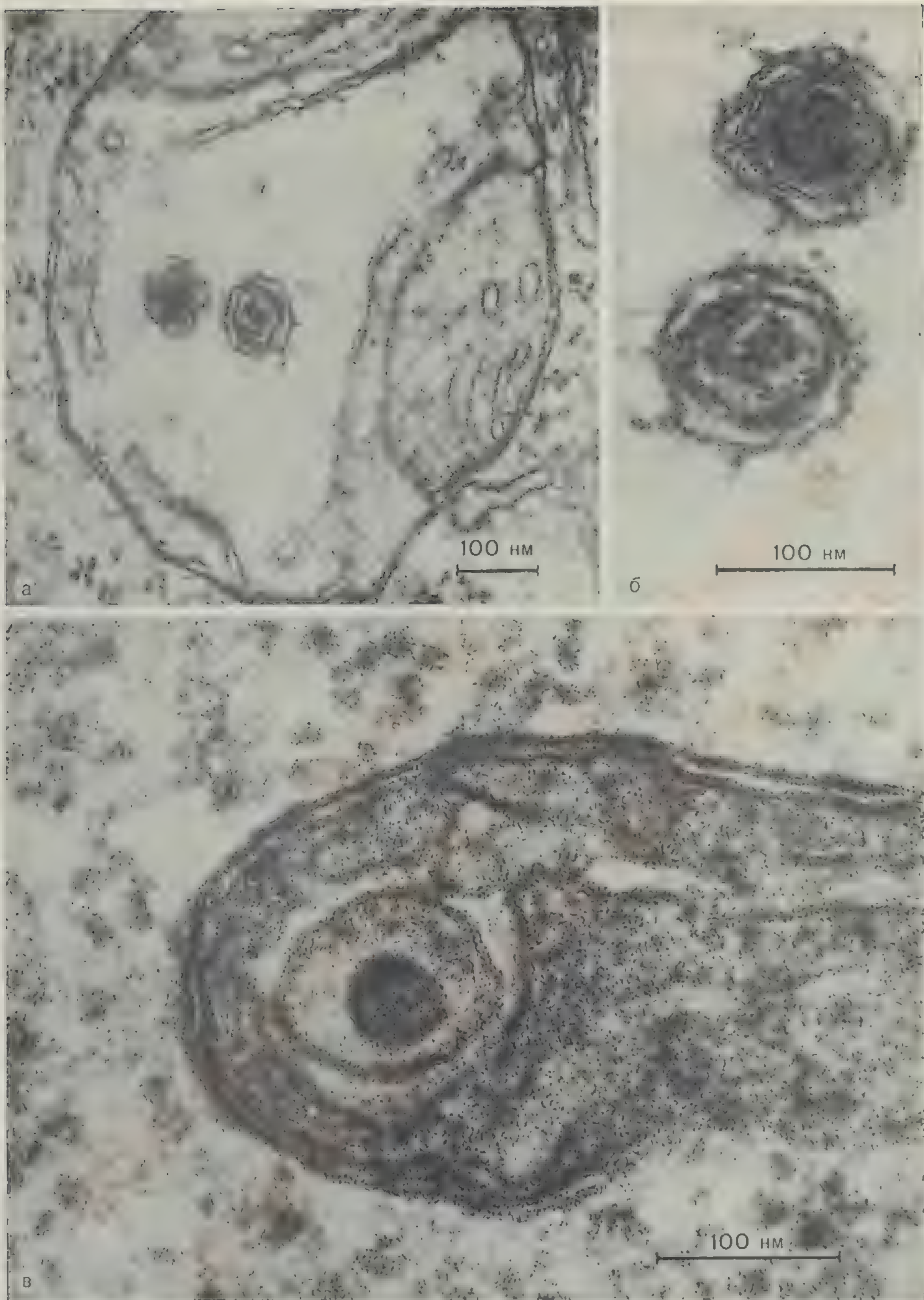
30. Адсорбция сформированной (Сц) и формирующейся (фСц) сердцевин онковируса на поверхности митохондрии (М) клетки ХРО. Ув. 300 000.



31. Внутримитохондриальные онковirusы типа А.

Р — рибосома; ГЭР — гранулярный
эндоплазматический ретикулум.
а — предполагаемое формирование онковируса
внутри митохондрии (М), б — локализация
онковируса в наружной камере митохондрии.
Ув. 300 000.





32. Внутримитохондриальные онковирусы типа С.
 а — обзор. Ув. 130 000; б — фрагмент а.
 Ув. 300 000; в — онковирус типа С в наружной
 камере митохондрии. Ув. 300 000.

V. ОНКОВИРУСЫ ТИПА В

Классическим представителем онковирусов типа В считают вирус, вызывающий опухоли молочных желез у мышей (MMTV). Влеклеточная популяция вируса состоит обычно на 70—80% из вирионов типа В и на 20—30% — из вирионов типа А.

Диаметр вирионов типа В составляет 90—120 нм (иногда до 200 нм) (рис. 33). Вирионы окружены двуслойной оболочкой, покрытой отростками. По мнению Sarkar, Moog (1974), поверхность вирусной мембраны содержит сетчатую структуру, состоящую в основном из шестиугольников и иногда из пятиугольников. Расстояние между ближайшими углами этой решетки 7,4 нм. Отростки прикрепляются к этой сети и каждый из них окружен пятью или шестью другими. Они отстоят друг от друга на $7,37 \pm 1,03$ нм. Структура отростков лучше всего различается при негативном окрашивании. Они содержат короткий стебелек диаметром 2 нм и длиной 4 нм и заканчиваются утолщением диаметром 5,5 нм. Утолщение состоит по крайней мере из трех субъединиц диаметром 1,5—2,5 нм [Sarkar et al., 1974]. Общая длина отростков 9,5—10 нм (см. рис. 33, 34).

В полости вириона эксцентрично располагается электроно-оптически плотный нуклеонид диаметром 40—60 нм. Nermut (1973) считает, что сердцевина MMTV может обладать кубической симметрией. В сердцевине выявлены одиночные нити диаметром 3—5 нм, произвольно ориентированные внутри нуклеонида, и спиральные структуры диаметром 7—9 нм, которые содержат нити толщиной 3—5 нм. Эти наблюдения позволяют считать, что нуклеокапсид вируса образован спиралью с периодичностью 12,6 нм.

Структура онковирусов типа А, ассоциированных с вирионами типа В — А(В), достаточно подробно изучена в ультратонких срезах [Thomas et al., 1970; Dalton, 1972]. Онковирс типа А содержит центральный нуклеонид с электроно-оптически прозрачным центром, окружен-

ным двумя слоями умеренной плотности. От поверхности наружного слоя простираются радиальные выросты к внутренней стороне оболочки, покрытой отростками (рис. 35—37).

Структура внутрицитоплазматических частиц типа А — сердцевин онковирусов А(В) — в опухолях молочных желез мышей также изучена довольно подробно [Bernhard, 1958; Thomas et al., 1969, 1970, 1971; Gay et al., 1970, и др.]. Сердцевинны располагаются в гиадплазме эпителиальных клеток опухоли поодиночке или группами, главным образом в апикальной части клетки, поблизости от ядра или зоны Гольджи. Характерно расположение частиц по периферии цитоплазматических вакуолей (см. рис. 35).

На срезах сердцевинны имеют округлую или эллипсоидную форму. Их размер варьирует от 68 до 75 нм [Bernhard, 1958; Tanaka et al., 1972]. Они состоят из двух концентрических электроно-оптически плотных слоев. Диаметр внутреннего (более плотного) слоя составляет 50—55 нм [Imai et al., 1966; Thomas et al., 1969, 1970; Gay et al., 1970; Tanaka et al., 1972]. Между внутренним и наружным слоями некоторые авторы обнаруживают радиальную исчерченность [Thomas et al., 1969a; Gay et al., 1970]. В центре некоторых сердцевин локализуются электроно-оптически плотные гранулы, сходные с рибосомами [Gay et al., 1970].

По данным Sarkar и Whittington (1977), при негативном контрастировании сердцевинны типа А, выделенные из клеток опухоли Лейдига, имели вид полых сферических образований. Некоторые из них содержали небольшие сферические частицы (по мнению авторов, комплекс РНК — белок). Диаметр цитоплазматических сердцевин равнялся 70—95 нм (в ультратонких срезах 55—85 нм); толщина сферы 19 нм. Методом электроно-микроскопической цитохимии было установлено, что внутрицитоплазматические сердцевинны типа А содержат 9,6% РНК и белок; ДНК и липиды отсутствовали.

Удельная плотность очищенных внутрицитоплазматических сердцевин в градиенте сахарозы составляет 1,27—1,28 г/см³ [Sarkar, Whittington, 1977] в отличие от вирионов типа В, плотность которых равна 1,17 г/см³ в сахарозе и 1,22 г/см³ в хлориде цезия.

В 1977 г. Kohno и Tanaka впервые обнаружили, что цитоплазматические нуклеонды типа А содержат Mg^{+2} РНК-зависимую ДНК-полимеразу.

Longfello и Smith (1976) исследовали свойства ДНК, ассоциированной с частицами типа А, и установили, что эта ДНК является промежуточной репликативной формой вирусного генома.

Современные представления о морфогенезе MMTV в общих чертах вернулись к тем, которые были изложены в первых работах по морфологии этого вируса [Bernhard, 1958; Imai, Okano, 1966; Ames, Rubin, 1970; Thomas et al., 1971, и др.].

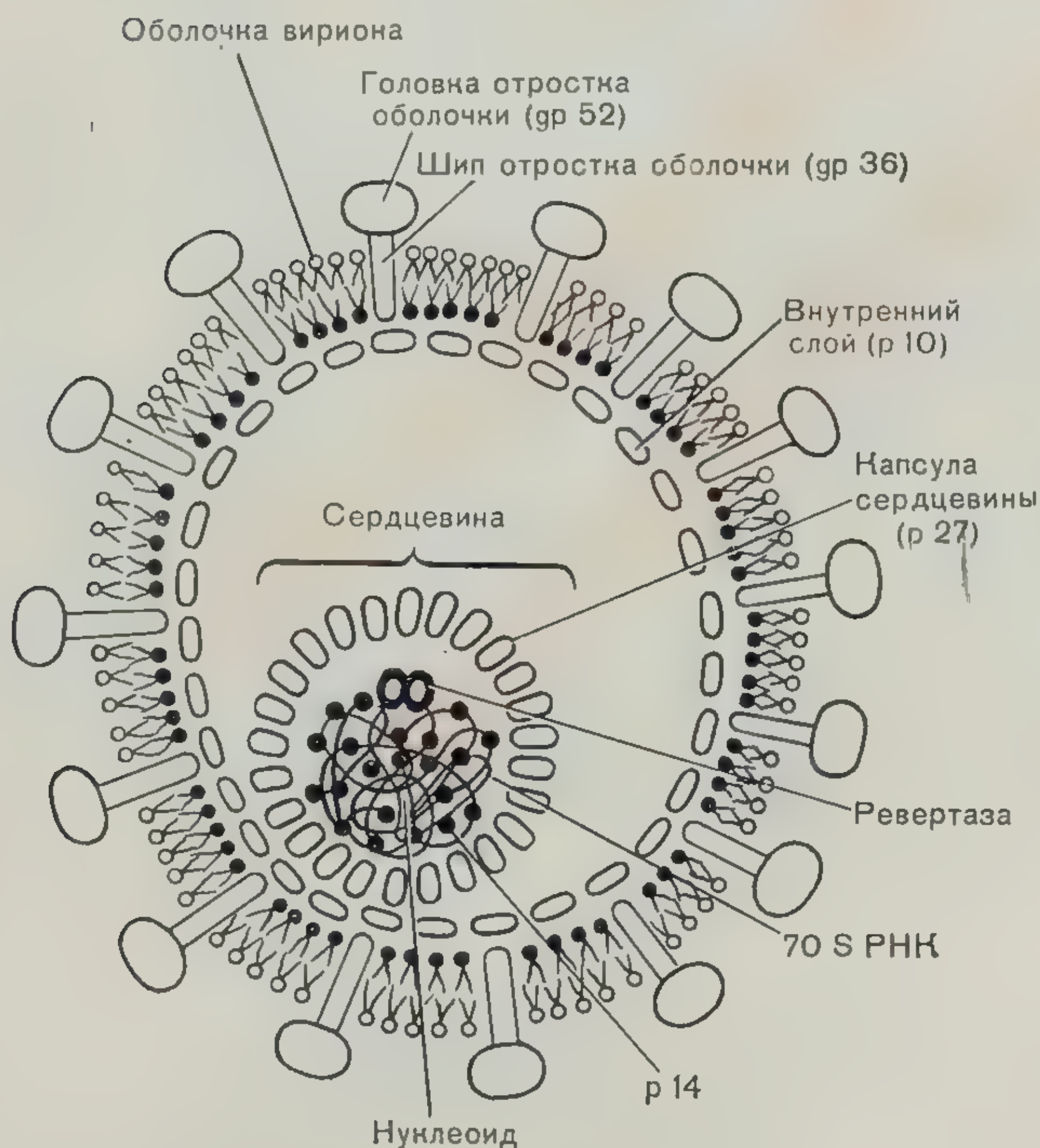
Предварительно сформированные в цитоплазме или формирующиеся непосредственно под плазматической оболочкой клетки (мембран внутриклеточных вакуолей, вакуолей комплекса Гольджи) вирусные сердцевинки выделяются из клеток в процессе почкования. Морфогенез внеклеточных вирионов типа А, превращающихся во внеклеточные вирионы типа В, описали Lasfargues, Moor (1959); Goldfeder с соавт. (1960); Dalton, Potter (1968); Sarkar, Moor (1972); Dalton (1972).

По данным Gay и сотр. (1970), предварительно сформировавшиеся нуклеонды

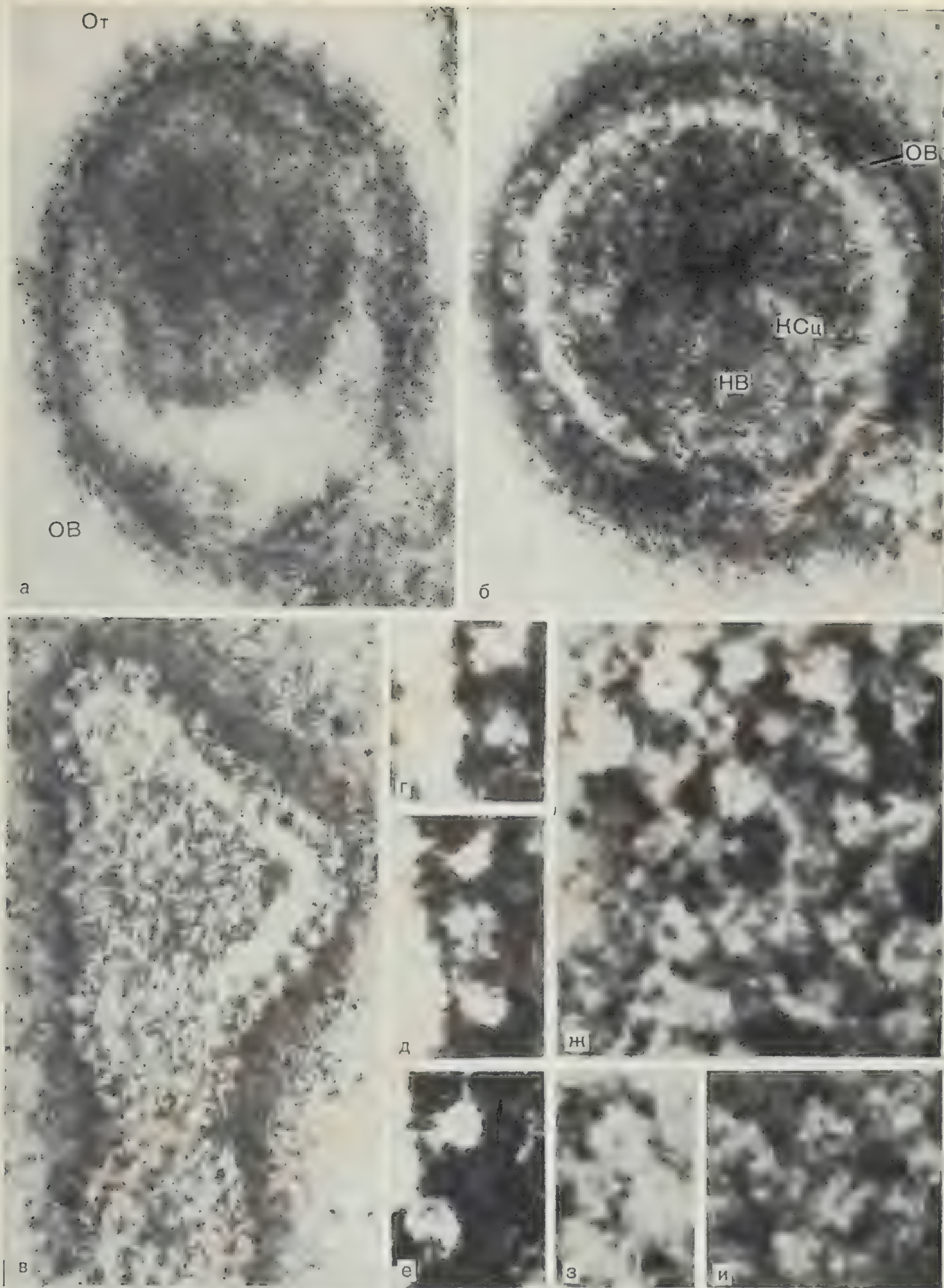
почковались внутриклеточных вакуолей, а нуклеонды, почкующиеся в просвет ацинуса, почти всегда образовывались непосредственно под оболочкой клеток. В последнем случае дифференцировать почкующиеся онковirusы типа А(В) от онковirusов типа А(С) можно лишь по структуре вирусных отростков [Shidlovsky et al., 1978].

По данным Thomas с соавт. (1970), Sarkar, Moor (1972), отростки на вирионе начинают обнаруживаться при почковании вируса и постепенно покрывают всю его поверхность. Длина отростков составляет 7—8 нм, они отделены друг от друга промежутком в 7 нм [Thomas et al., 1970]. Изучая формирование оболочки MMTV методом замораживания — скалывания, Scheffield (1974) показал, что при превращении клеточной мембраны в оболочку вируса одновременно добавляются новые вирусные белки и антигены и перемещаются или исчезают некоторые нормальные компоненты клеточной мембраны из области созревания вируса.

При исследовании гликопротеидов MMTV было установлено [Nixson et al., 1976], что существуют количественные различия в почковании онковirusа в различных культурах клеток (А)Дм и С₃Н/Неj (Тех.). Авторы считают, что во время почкования вируса могут изменяться распределение и конформация молекул гликопротеидов, входящих в состав плазматической оболочки клетки и оболочки онковirusа.



33. Супрамолекулярная организация онковirusа типа В (схема).

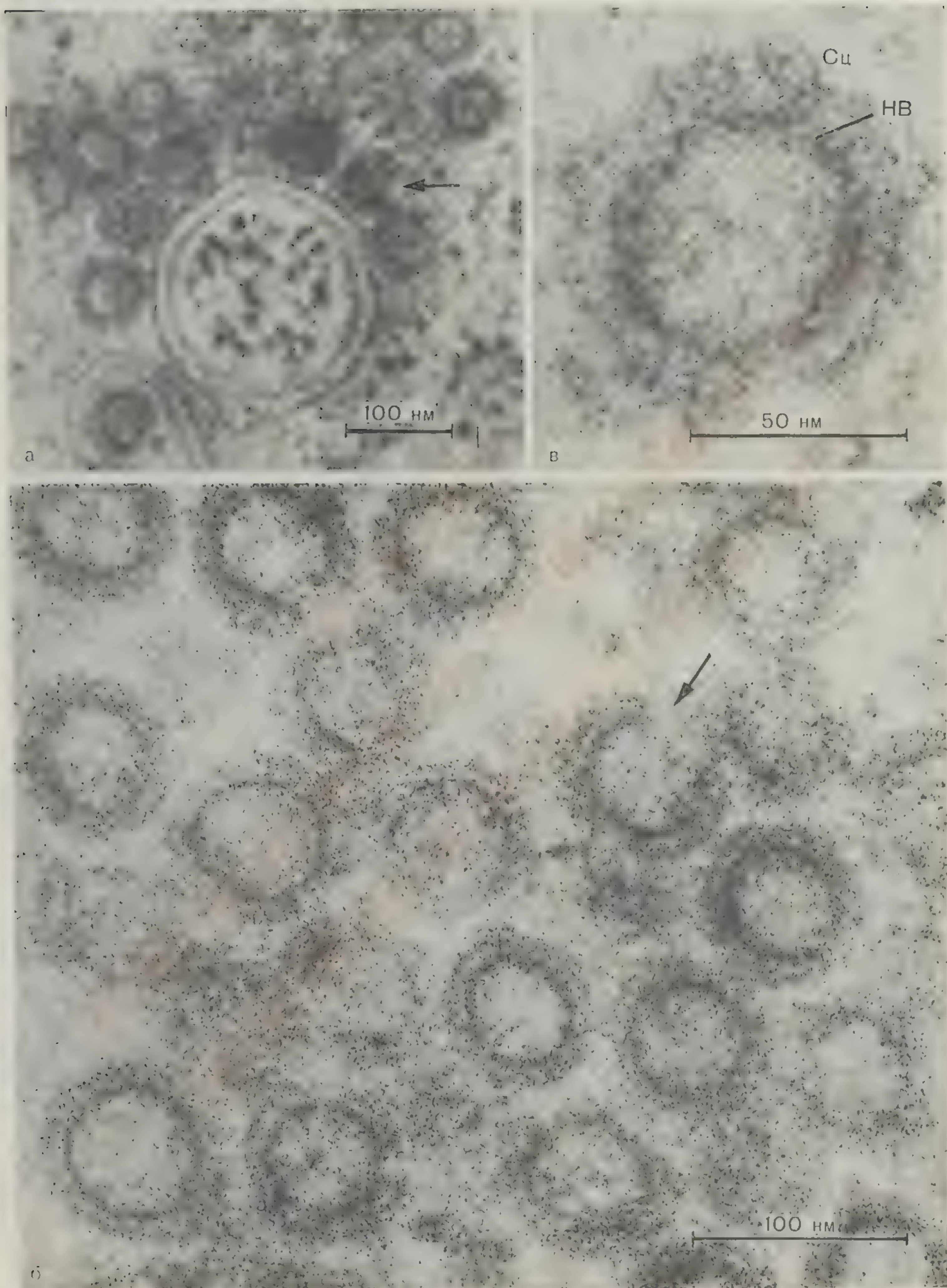


34. Структура онковируса рака молочной железы мышей (MMTV).

а — ультратонкий срез. Ув. 760 000; б — вирион (негативное контрастирование). Ув. 600 000; в — поверхность вируса. Ув. 600 000; г—и—отростки (От). Ув. 2 000 000.
 ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевинки вируса; НВ — нуклеоид вируса.

35. Ультраструктура сердцевин ММТВ.

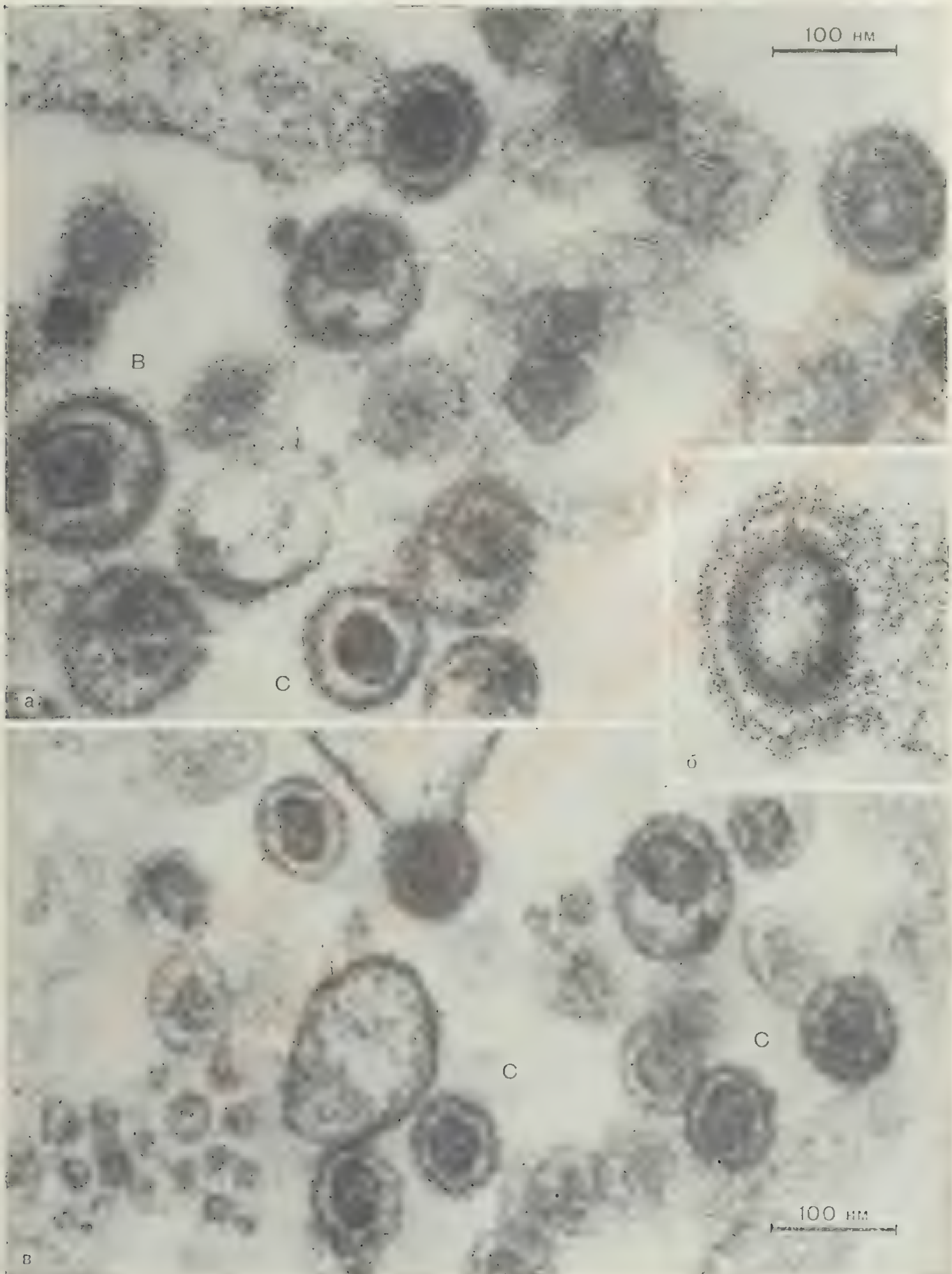
а — скопление сердцевин. Ув. 180 000; б — скопление сердцевин. Ув. 380 000; в — отдельная сердцевина. Ув. 760 000.
Стрелками показаны неполные сердцевинки. Сц — сердцевина; НВ — нуклеонид.



36. Почкование преобразованных сердцевин
онковирусов типа А (В).

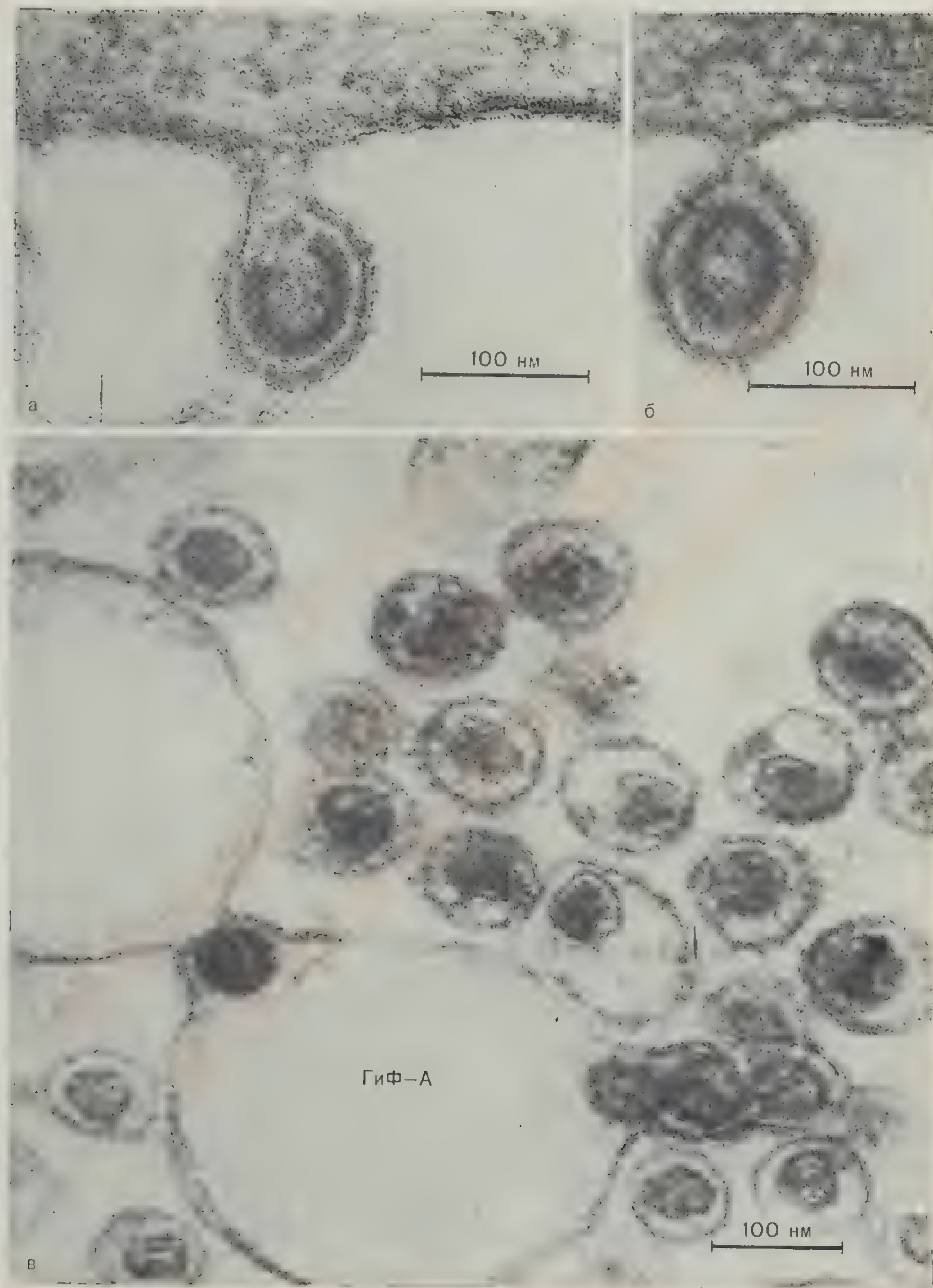
а, в — ув. 230 000; б — 380 000.

В — онковирусы типа В; С — онковирусы типа С.



37. Этапы почкования формирующихся сердцевин онковирусов типа А (В).

а, б — последовательное формирование сердцевин.
Ув. 300 000; в — скопление внеклеточных онковирусов
типов В, С и гигантских полинуклеонидных
аномальных форм (Гиф-А) онковирусов типа А.
Ув. 230 000.

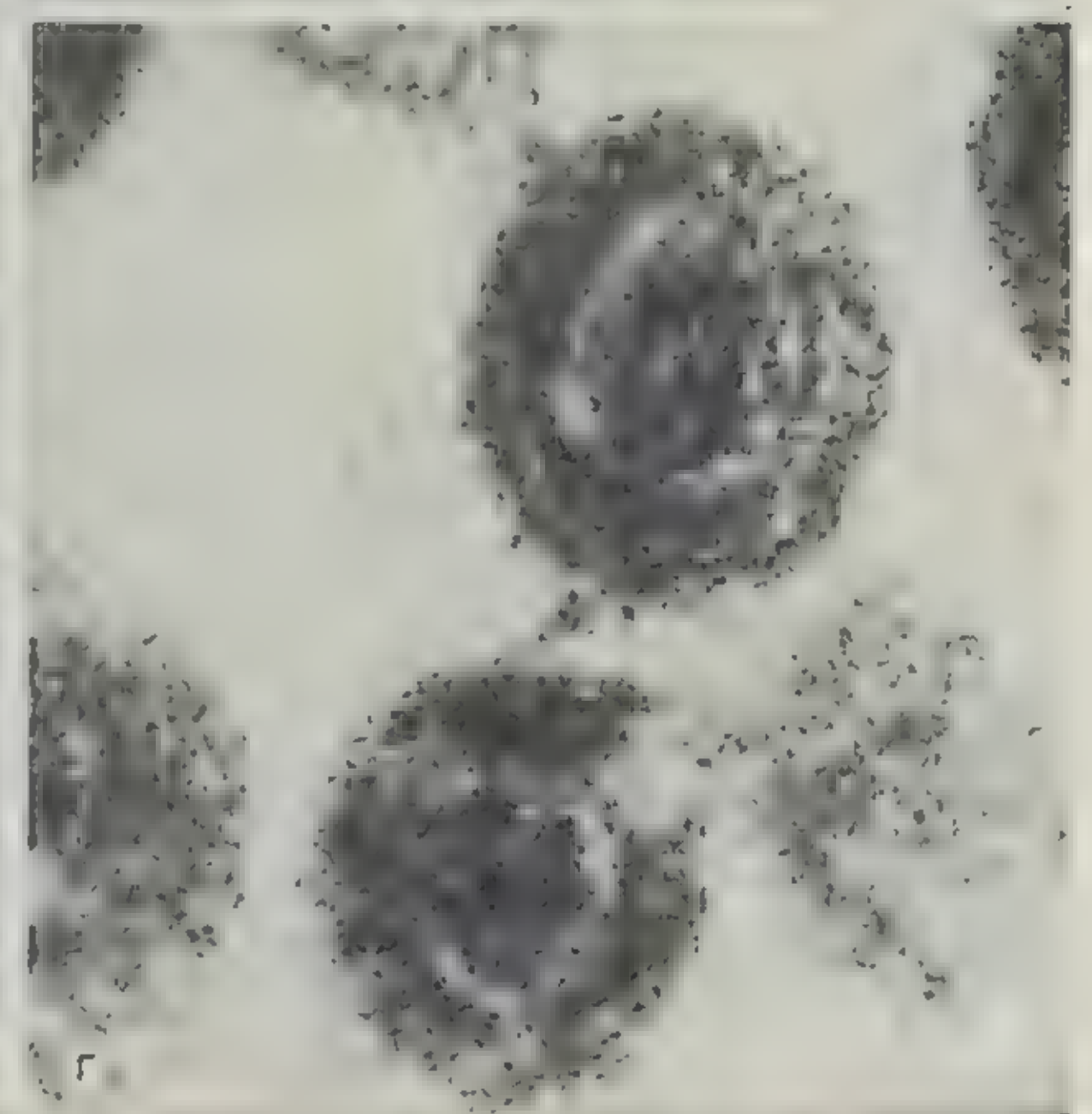
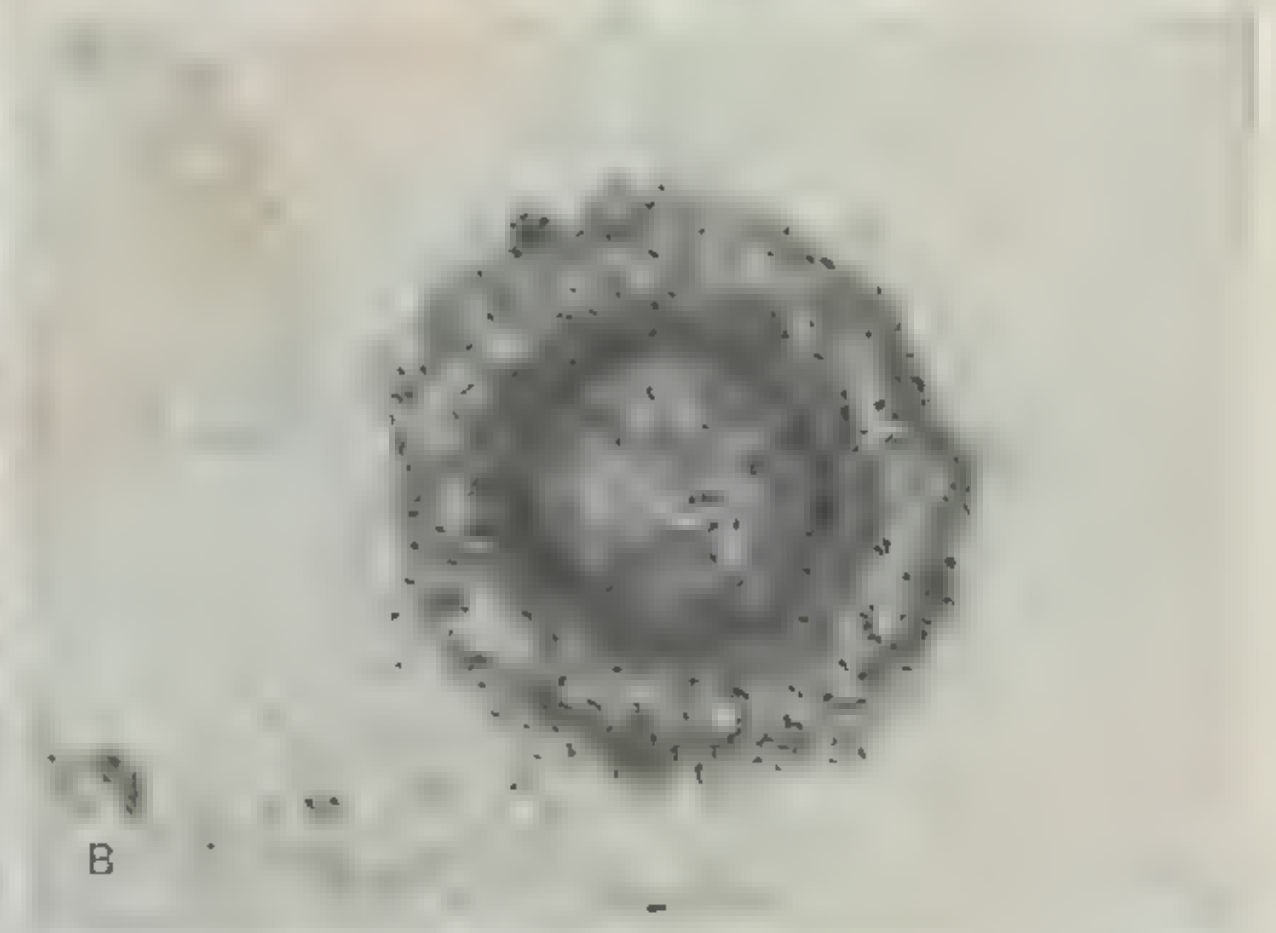
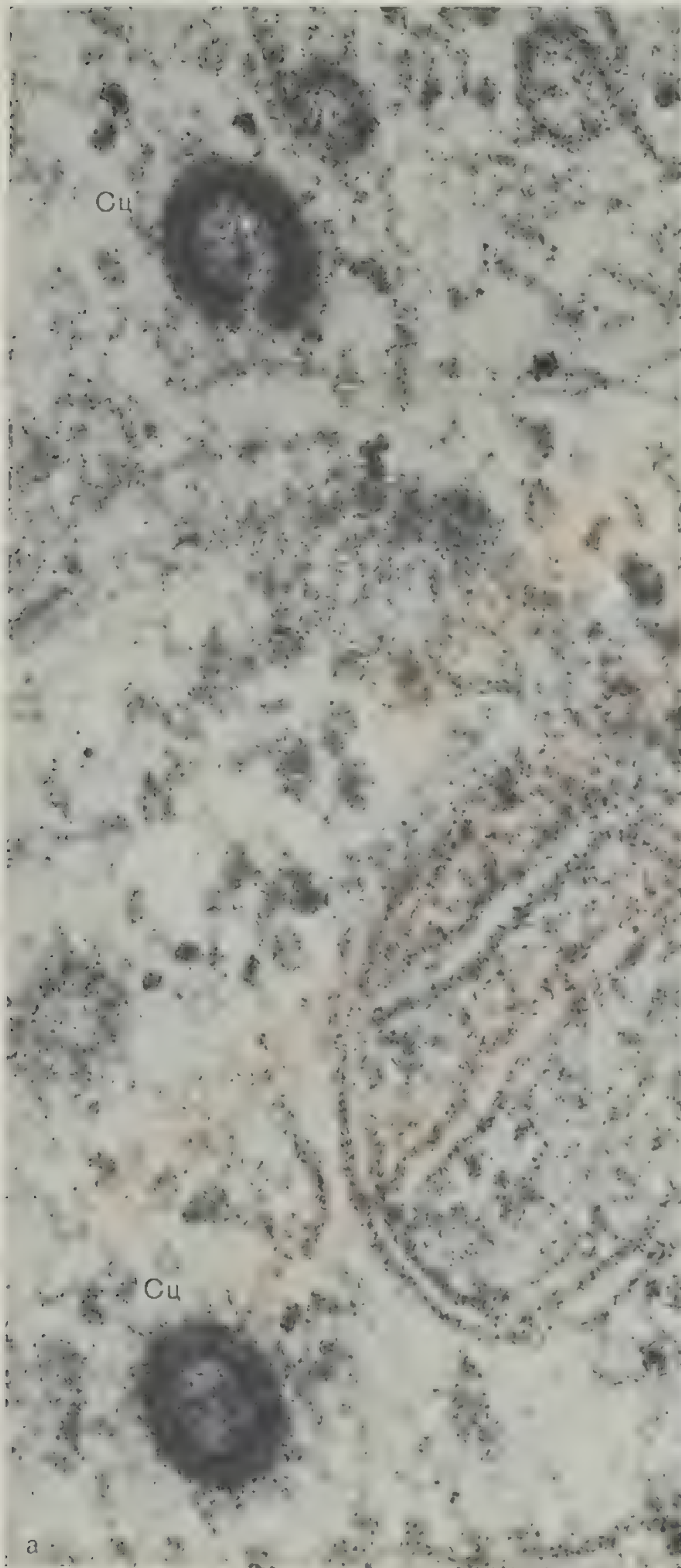


38. Аномальные (полинуклеидные) формы
онковирусов типа В (Гиф-В) и типа А (В)
(Гиф-А). Ув. 380 000.



39. Ультраструктура эндогенного вируса морских свинок.

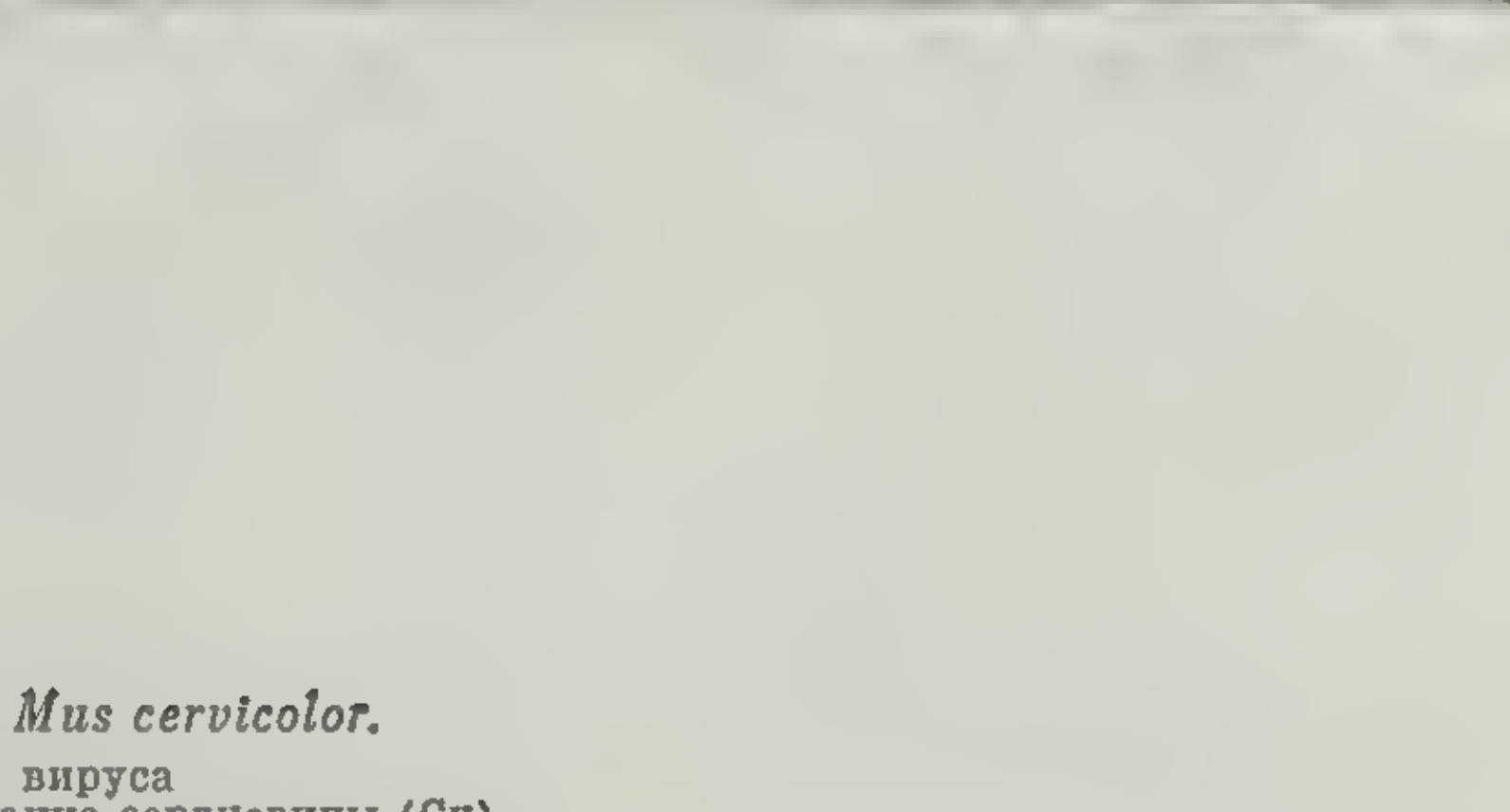
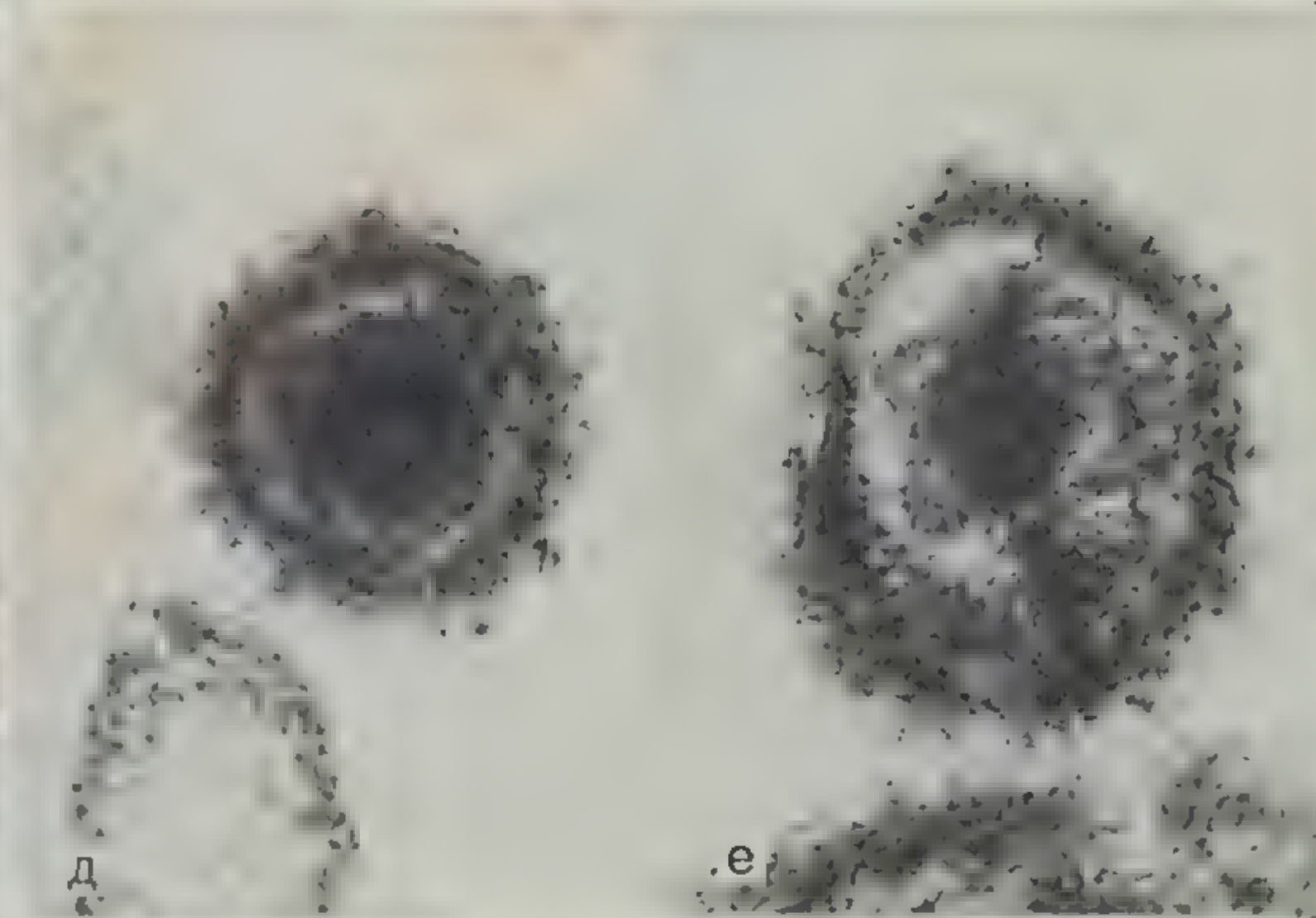
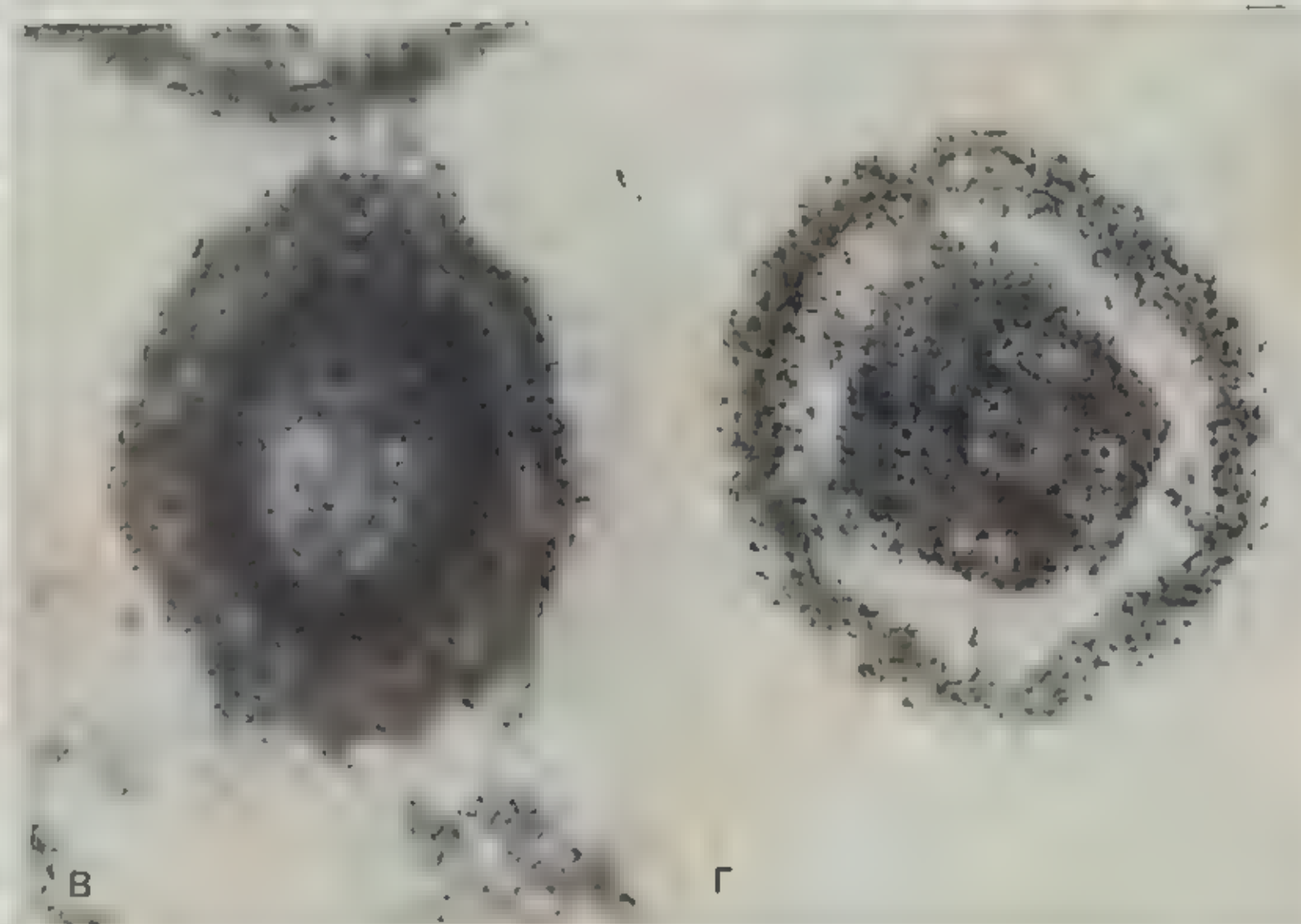
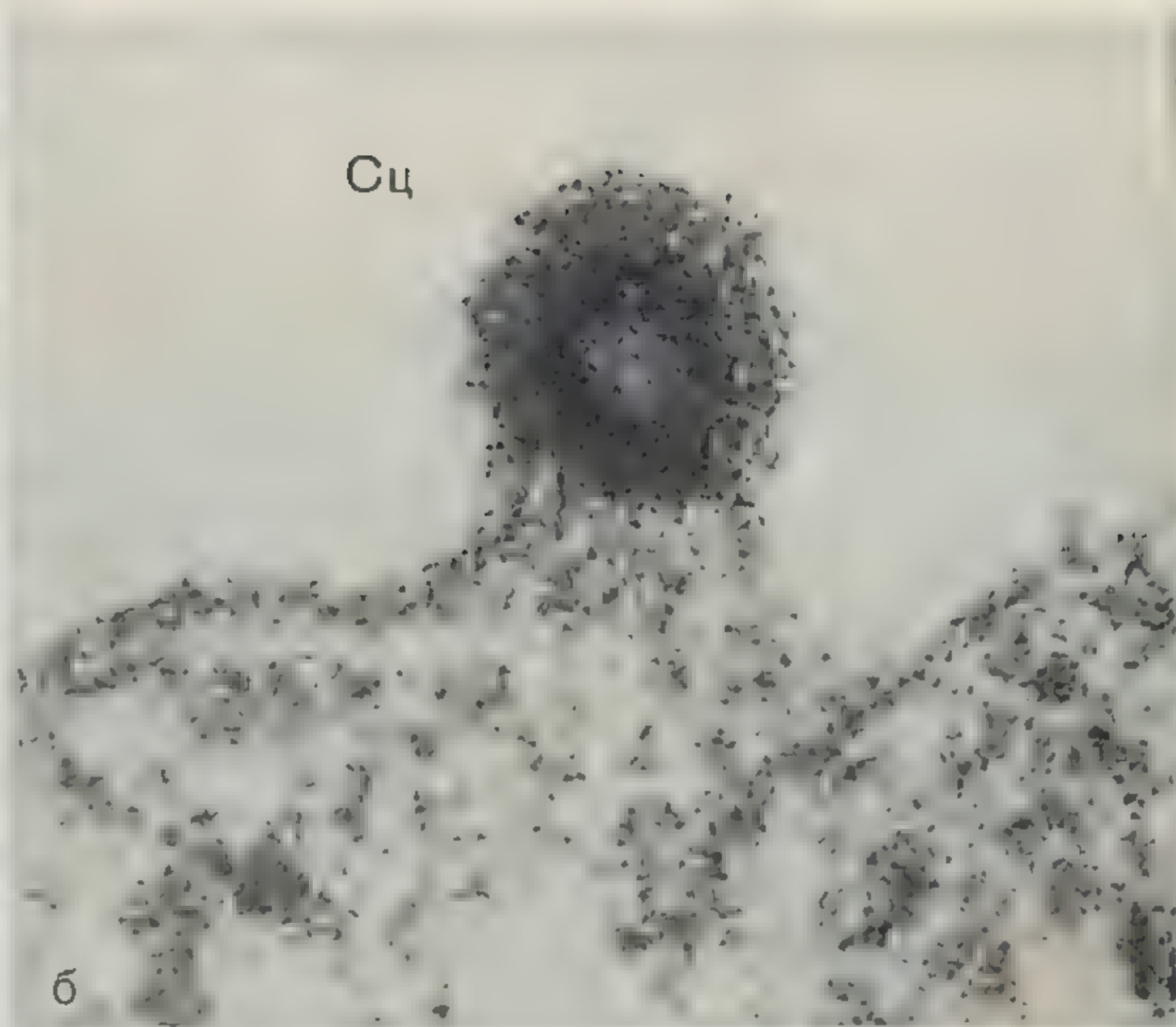
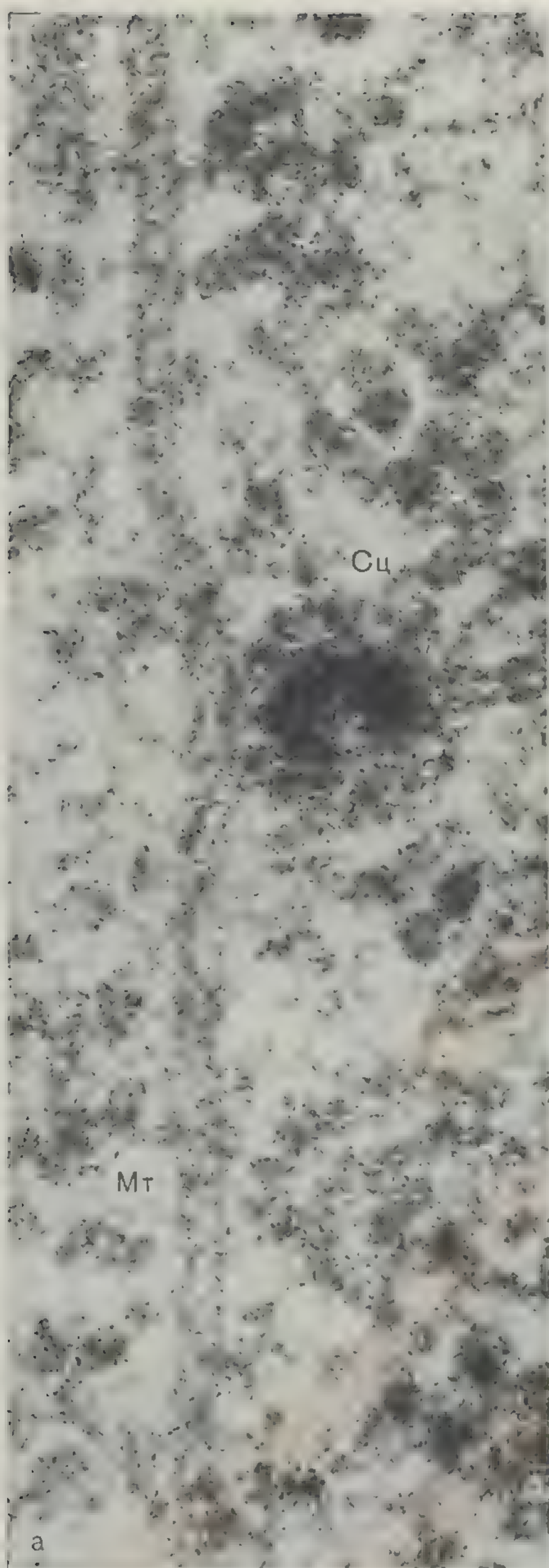
а — формирующаяся (вверху) и сформированная (внизу) сердцевина (Сц) вируса (препарат J. Dahlberg); б — почкование; в — внеклеточный вирион типа А(В); г — вирионы типа В.



40. Скопление сердцевин (Сц) эндогенного вируса *Mus cervicolor* в зоне центриоли (Ц) (Препарат U. Heine).

Мт — микротрубочки. Ув. 100 000.





41. Морфогенез эндогенного вируса *Mus cervicolor*.

а — формирование сердцевин (Cc) вируса (Mt — микротрубочка); б — почкование сердцевин (Cc) на поверхности клетки; в — внеклеточный вирион типа А; г — внеклеточный вирион типа С; д, е — внеклеточные вирионы типа В. Ув. 300 000.

Наряду с внеклеточными вирионами онковирусов MMTV, содержащими одну сердцевину, часто выявляются вирионы, в которых локализуется несколько сердцевины типа А и В (рис. 38).

Вирусные частицы, морфологически сходные с MMTV, были обнаружены в молоке женщин, имевших в анамнезе опухоли молочных желез, а также в молоке здоровых женщин приблизительно с одинаковой частотой — 10% [Миллер Г. Г. и др., 1974; Chopra et al., 1972; Axel et al., 1972; Schlom et al., 1972, 1973]. Müller и соавт. (1972, 1976) показали, что в сыворотках женщин с мастопатией или раком грудной железы содержатся антитела, реагирующие с цитоплазматическими сердцевинами типа А или разрушенными вирионами типа В, но не реагирующие с интактными онковирусами типа В. Данные о существовании общих антигенных детерминант у цитоплазматических типа А сердцевины MMTV и подобных сердцевины вирусов типа D из раковых клеток человека и вируса Мезон — Пфайзера были получены К. В. Ильным и Zotter (1977).

Вирусы, сходные с онковирусами типа В, обнаружены также и у других жи-

вотных (рис. 39—41), в частности, у морских свинок [Opler, 1967; Feldman et al., 1970; Rhim et al., 1977; Murphy et al., 1977]. В различных тканях здоровых и больных лейкозней морских свинок, а также в клеточных культурах найдены зрелые внеклеточные вирионы ретровируса морских свинок [Vernon et al., 1977]. Их диаметр равен приблизительно 100 нм; они имеют гранулярную наружную поверхность с нерегулярно расположенными отростками, очень плотный слой непосредственно под наружной мембраной, а также эксцентрично локализованный нуклеонд. При негативном окрашивании на поверхности вирионов выявлены отростки. Почкующиеся и незрелые внеклеточные частицы встречаются редко и их внутренняя структура выявляется нечетко. Все наблюдавшиеся у клеточной поверхности вирусные «почки» имели преобразованный нуклеонд, как это часто наблюдается в системах, продуцирующих вирус типа В. В цитоплазматическом матриксе встречались частицы, по размерам (70 нм) и морфологии неотличимые от внутрицитоплазматических частиц типа А MMTV.

VI. ОНКОВИРУСЫ ТИПА С

Многочисленные представители этой группы онкогенных РНК-геномных вирусов типа С являются природными возбудителями лейкозов и сарком у различных животных от рыб до приматов включительно [Бергольц В. М., 1973; Зильбер Л. А. и др., 1975; Агеевко А. И., 1978; Бергольц В. М. и др., 1978; Gross, 1970].

Величина негативно окрашенных вирионов типа С варьирует от 95 до 150 нм [de The, O'Connor, 1966; de Harven, 1968; Bader et al., 1970], в ультратонких срезах (рис. 42, 43) — от 90 до 140 нм [de Harven, Friend, 1964; de Tkaczewski et al., 1965], а при использовании метода замораживания — скалывания (рис. 44) составляет 106 нм [Nermut et al., 1972].

От наружной поверхности оболочки вирионов типа С отходят отростки, в ультратонких срезах имеющие вид параллельных, скрещивающихся или образующих римскую цифру V прямых с вершиной на оболочке вириона [Parsons, 1963; Zeigel et al., 1964; Dougherty et al., 1970]. Некоторые авторы считают, что отростки состоят из двух структурно отличных элементов — ножки и утолщения на ее конце [Bolognesi et al., 1972; Gelderblom et al., 1972]. Однако вирусы, обработанные методом замораживания — высушивания, обнаруживают выросты в форме полусфер диаметром около 10—12 нм, определенным образом упакованных на поверхности вириона [Nermut et al., 1972; Moenning et al., 1974].

При исследовании методом замораживания — скалывания отростки вирусов лейкемии мышей имели форму шариков диаметром 10 нм [Fujio, 1978], а вируса опухолей молочных желез мыши — форму пинников диаметром 15 нм [Demsey et al., 1977]. При негативном окрашивании вирусов лейкемии Френд, Раушера и Гросса ФВК или молибдатом аммония на поверхности отдельных вирионов выявляли отростки в форме круглой дверной ручки (knobs) длиной 5—7 нм. При негативном окрашивании ацетатом уранила отростки диаметром 8 нм имели ту же форму, но выглядели не как плотные глобулы, а напоминали кольца или скопления более

мелких субъединиц. Их укладка на поверхности не очень упорядочена, однако иногда можно было увидеть тексоны. Вирусная оболочка, согласно модели авто-ров, состоит из «вирусной мембраны» толщиной около 8 нм и отростков в форме круглой дверной ручки диаметром около 8 нм [Nermut et al., 1972].

Между оболочкой вириона и его сердцевинной находится так называемый промежуточный слой (синонимы: промежуточная мембрана, вирусный капсид, покрытие сердцевинны), который был описан еще в работах de Harven (1968), Bader и соавт. (1970), Herz и соавт. (1970). В ультратонких срезах плотность промежуточного слоя приблизительно соответствует плотности оболочки вируса, но в отличие от последней не имеет бимолекулярной структуры [Dougherty et al., 1970]. У лейковирусов птиц промежуточный слой обнаруживается постоянно как в незрелых, так и в зрелых вирионах типа С [Heine et al., 1963; Bader et al., 1970]. Среди лейковирусов млекопитающих он описан у онковирусов типа А(С) [de The, O'Connor, 1966; Gazzolo et al., 1971; Snyder, 1971]. Толщина промежуточного слоя для вирусов лейкемии мышей (10 нм) и кошек (5 нм) была постоянной и не зависела от типа клеток, в которых происходило созревание вирионов [Dalton, 1972].

В ультратонких срезах сердцевинны зрелых вирионов типа С имеют округлую, овальную, ангулярную форму и расположены центрально [Bernhard, 1960; de The, O'Connor, 1966; Zeigel, Clark, 1969; Lambertenghi et al., 1972; Snyder et al., 1973]. При высоком разрешении электронного микроскопа в толще сердцевин просматриваются несимметрично упакованные тяжи толщиной от 6—8 до 0,6—0,7 нм (рис. 45—48). Размеры сердцевин лейковирусов млекопитающих в ультратонких срезах варьируют от 50 до 90 нм, а лейковирусов птиц и рептилий — от 30 до 40 нм [Быковский А. Ф. и др., 1972, 1973; Мартыненко В. Б., 1974; Zeigel, Clark, 1969; Armstrong et al., 1971; Ferrer et al., 1971; Feller et al., 1971].

Было предложено несколько моделей

структуры вирусов типа С [de The, O'Connor, 1966; Luftig, Kilham, 1971; Sarkar et al., 1971; Nermut et al., 1972; Bader, 1974]. Эти модели более различаются по интерпретации наблюдаемых структур, чем по их описанию.

Frank и соавт. (1978) модифицировали модель вируса типа С, предложенную ранее Nermut и соавт. (1972). В моделях Frank и соавт. (1978) впервые была описана структура, названная авторами «внутренним покрытием оболочки», которая в негативно окрашенных препаратах нативных частиц выглядела как тонкий слой между вирусной мембраной и покрытием нуклеоида.

Второе отличие этой модели от описанных ранее заключается в том, что сердцевина имеет отверстие. Согласно представлениям о структуре почкующихся вирусов это отверстие локализуется на том участке, который синтезируется последним в процессе почкования. Авторы предполагают, что вирусный рибонуклеопротеид представляет собой пень, закрученную в структуру, напоминающую осиное гнездо. Отверстие этой структуры расположено над отверстием покрытия сердцевинки.

Bolognesi и соавт. (1978) предложили следующую модель онковируса типа С на примере вируса лейкемии мышей Френд. Поверхность вириона состоит из двойного слоя липидов, из которого выступают рыхло прикрепленные поверхностные сферические отростки. Птичьи вирусы типа С выглядят сходно, отличие состоит в том, что отростки соединены с частицей через легко видимые тонкие отростки и таким образом дальше выступают с поверхности вириона. Под вирусной оболочкой локализуется тонкий слой — внутреннее покрытие. Оболочка и внутреннее покрытие окружают сердцевину вируса, состоящую из наружного покрытия, построенного из гексагонально упакованных субъединиц, и внутренней электронно-оптически плотной структуры (нуклеоида или, точнее, рибонуклеопротеидного комплекса — РНП) в виде спиральной нити. Локализация основных структурных полипептидов и гликопротеинов вирусов типа С и их связь со структурными субъединицами представлены в таблице.

Значительная информация накопилась к настоящему времени в отношении генеза отдельных структурных элементов из соответствующих молекул-предшественников. В каждой вирусной системе описаны две различные формы предшественников основных структурных компонентов: одна для составляющих оболочки вириона (env), вторая для внутренних вирионных полипептидов (gag).

England и соавт. (1977) показали, что у птичьих онковирусов имеется слабо гликозилированный предшественник (gp90),

Структурные компоненты онковирусов типа С птиц и мышей

Полипептид вириона типа С онковирусов		Структурный компонент	Структура вириона
птиц	мышей		
gp85—S' gp35—S p10	gp71—S gp 15E—S p12E	Шарик Отросток Ассоциирован с оболочкой	Оболочка
p19	p12	Внутреннее по- крытие ¹	Внутреннее покрытие ¹
p27	p30	Покрытие серд- цевинки	Наружная поверхность сердцевинки
p15	p15C	Ассоциирован с сердцевинкой	Комплекс РНП
p12	p10	Нуклеопротеид	
p91(β) p64(α)	p70(α)	Обратная тран- скриптаза	

¹ Отнесение вирусных фосфопротеинов (p19 и p12) к внутреннему покрытию не исключает возможности того, что небольшое число молекул (менее 1%) может связываться с вирусной РНК во время созревания.

который посредством образования дисульфидной связи и протеолитического расщепления образует вирусный гликопротеидный комплекс (gp85—S—S—gp35). Аналогичный процесс, по-видимому, происходит у онковирусов мышей с гликозилированием предшественника gp90, который образует комплекс gp71—S—S—15E [Naso et al., 1976].

Мышиный p15E, по-видимому, дальше расщепляется до серологически и биохимически родственного белка оболочки p12E [Shapiro et al., 1976], который, в противоположность p15E, не связан дисульфидными связями с gp71. Специфическое расщепление мышиного предшественника env, вероятно, происходит до его погружения в мембрану или одновременно с ним [Witte et al., 1977].

Молекулы предшественника внутренних структурных полипептидов вируса также охарактеризованы для птичьих и мышиных вирусов типа С. У птичьих вирусов предшественник gp76 дает начало белкам p27, p19, p15, p12 [Vogt et al., 1975]. Аналогичные компоненты содержатся в соответствующем мышином предшественнике (gp70): p30, p15, p12 и p10 [Barbacid et al., 1976].

Для механизма сборки вируса характерны связывающие взаимодействия между структурными компонентами во время процесса почкования. Как и у других вирусов, покрытых оболочкой, вероятно, существуют специфическое распознавание и нековалентная ассоциация между некоторыми молекулами оболочки и внутренними компонентами вириона. Это взаимодействие может быть временным и слу-

жить для встраивания компонентов в местах почкования, но соответствующие молекулы могут сохранять их сродство к другим молекулам даже в зрелом вирионе. В пользу существования этих отношений у птичьих онковирусов говорят данные о том, что р19 остается ассоциированным с вирусным гликопротеидным комплексом даже после выделения из вируса иммунопреципитацией антисывороткой к основному гликопротеиду (gp85) [Schlitsinger, 1976].

Bolognesi и соавт. (1978) считают, что, по-видимому, вирусная РНК не необходима для сборки вириона, поскольку вирус лейкемии мышей, образованный в присутствии актиномицина D, не имеет 60—70S РНК, но содержит нормальные количества вирионных структурных полипептидов, включая полимеразу [Levin, Rosenak, 1976].

Формирующиеся нуклеониды онковирусов типа С почкуются либо внутри цитоплазматических вакуолей (рис. 49, 50), либо на поверхности клетки. Почкование вируса усиливается в 3—4 раза при воздействии на клетки эритролейкемии Френд бромдезоксипуридином и диметилсульфоксидом [de Harven et al., 1973]. Почкованию вирионов при лейкемии Гросса сопутствуют утолщение клеточной мембраны и увеличение плотности между ней и образующейся внутренней структурой вириона. В цитоплазме рядом с почкующейся частицей наблюдаются небольшие вакуоли [Feldman, Gross, 1964]. В ангио-

мах кошки почкование онковируса идет на поверхности гистиоцитов и фибробластов [Feldman et al., 1974]. Вирус лейкемии Френд размножается в кровяных клетках, находящихся в просвете средней части кишечника комаров *Aedes aegypti* (Linneus) и *Anopheles stephensi* (Linston) через 30 и 78 ч после кормления комаров на мышах, больных лейкемией [Hiroyuki et al., 1971].

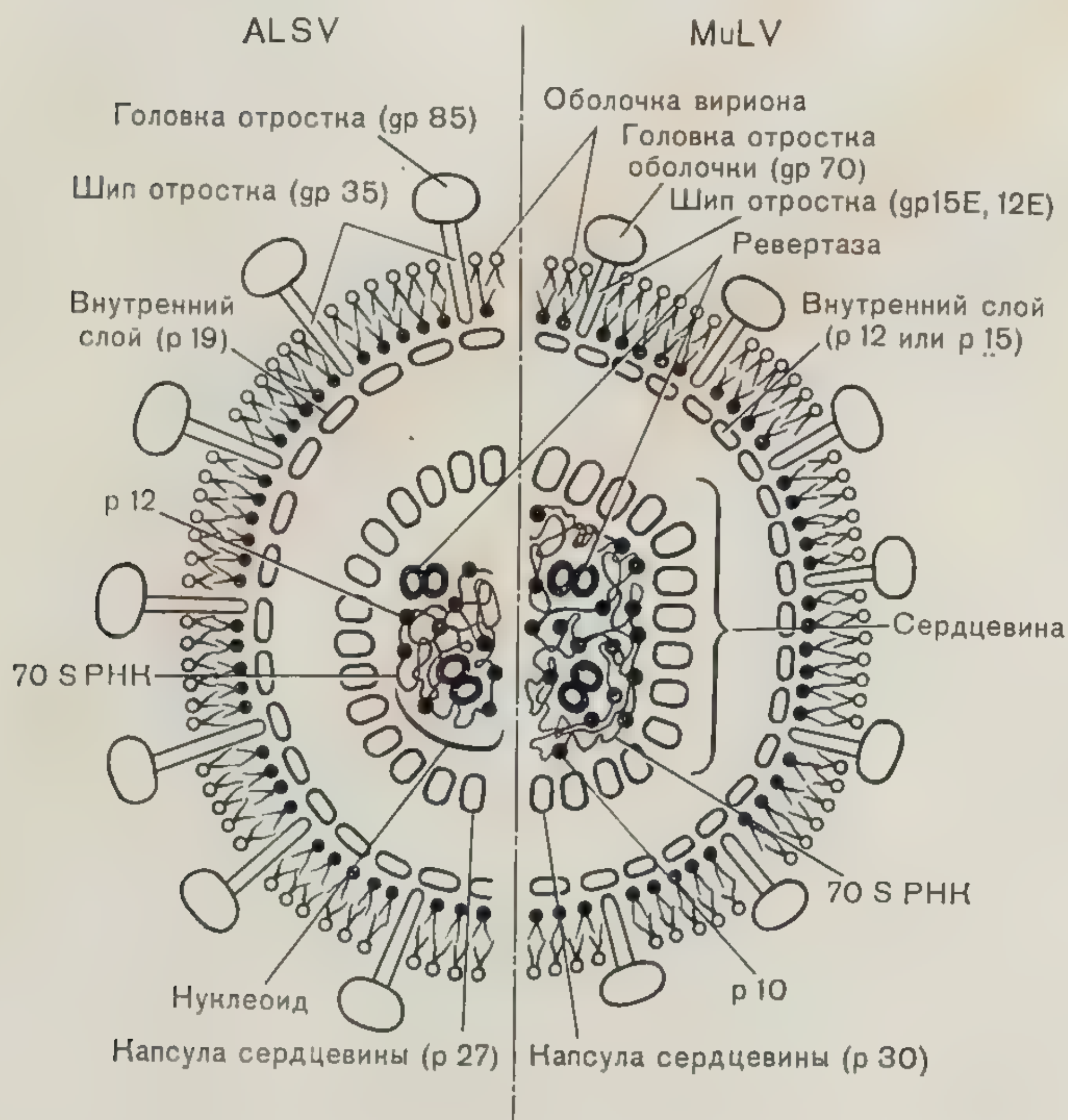
Внеклеточные вирионы типа А имеют в основном сферическую, реже овальную, форму и расположены внеклеточно или в цитоплазматических вакуолях. Размер вирионов варьирует от 90 до 120 нм (рис. 51, 52).

В единичных случаях удается наблюдать почкование на поверхности клетки зрелых нуклеонидов типа С (рис. 53).

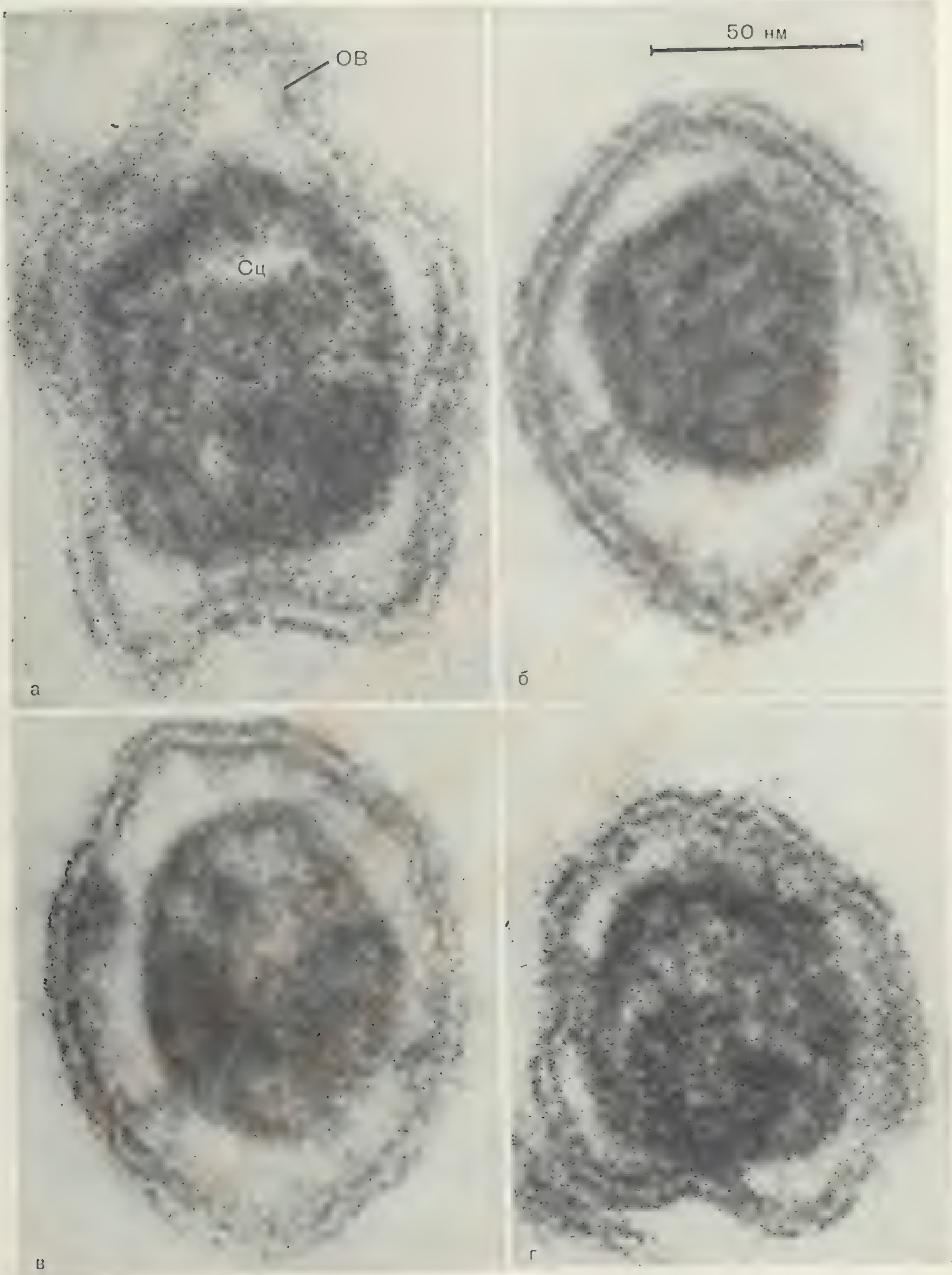
Масса вирионов онковирусов типа С равна приблизительно $450 \cdot 10^6$, плавающая плотность в градиенте сахарозы — 1,16 г/мл. Однонитчатая вирусная РНК с коэффициентом седиментации 60—70S состоит из 2—3 субъединиц с молекулярной массой около $3 \cdot 10^6$ (35S) каждая.

Groudine и соотр. (1978), изучая регуляцию экспрессии и конформацию хромосомных субъединиц ретровирусов птиц, нашли, что эндогенный и вновь интегрированный экзогенный вирусные геномы в хромосомах фибробластов эмбриона курицы присутствуют в нуклеосомоподобных структурах.

Онкогенные РНК-геномные вирусы, вызывающие лейкозы и саркомы птиц, мор-



42. Супрамолекулярная организация онковируса типа С (схема).



43. Вариации структуры вирионов онковирусов типа С.

а—г—ультратонкие срезы. Ув. 760 000. ОВ—оболочка вируса; Сц — сердцевина.

44. Морфология онковирусов типа С.

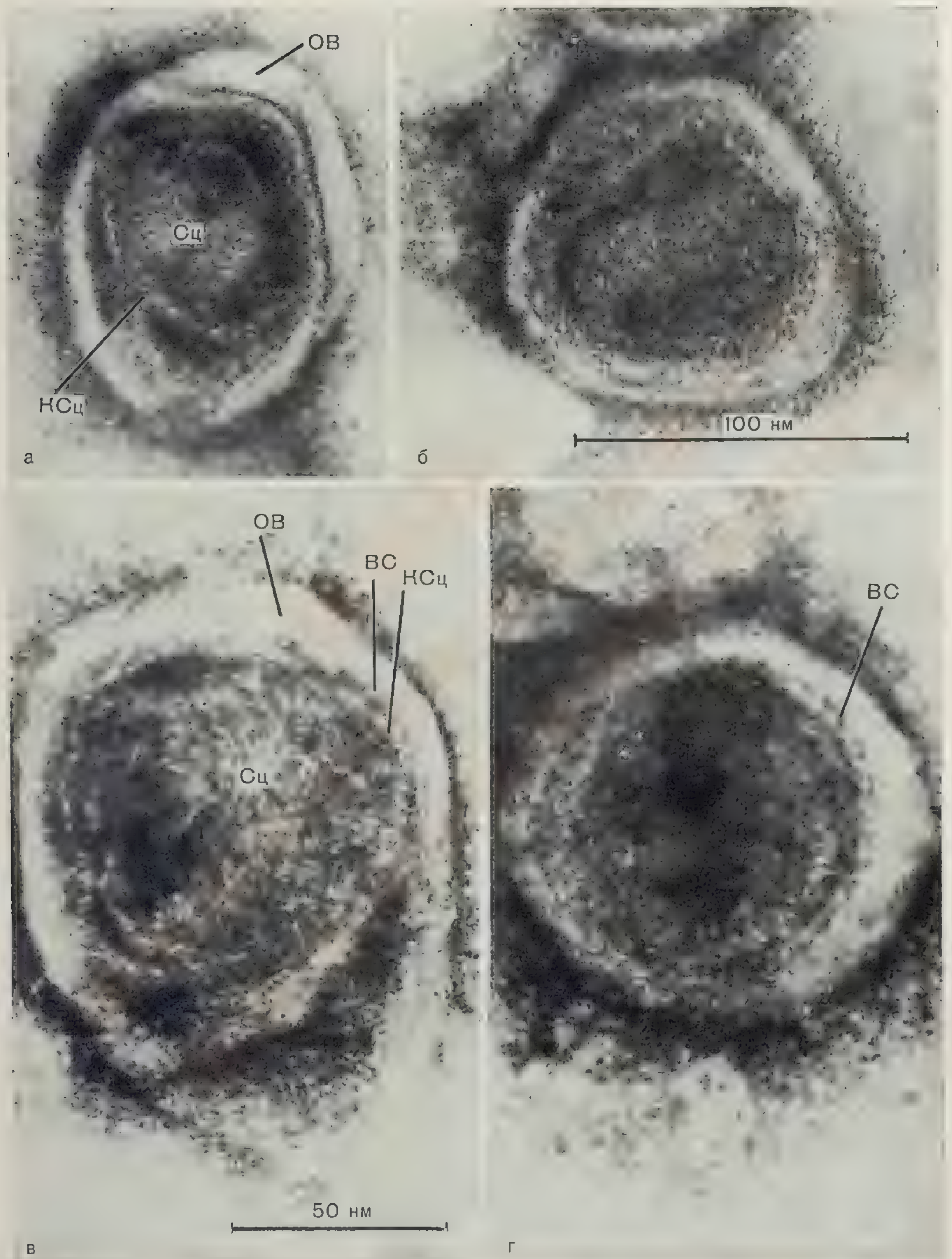
а, б — метод отщепления. Ув. 200 000; в—ж — замораживание—скалывание [Nermut et al., 1972];
з — криоультрамикротомия. Ув. 380 000.



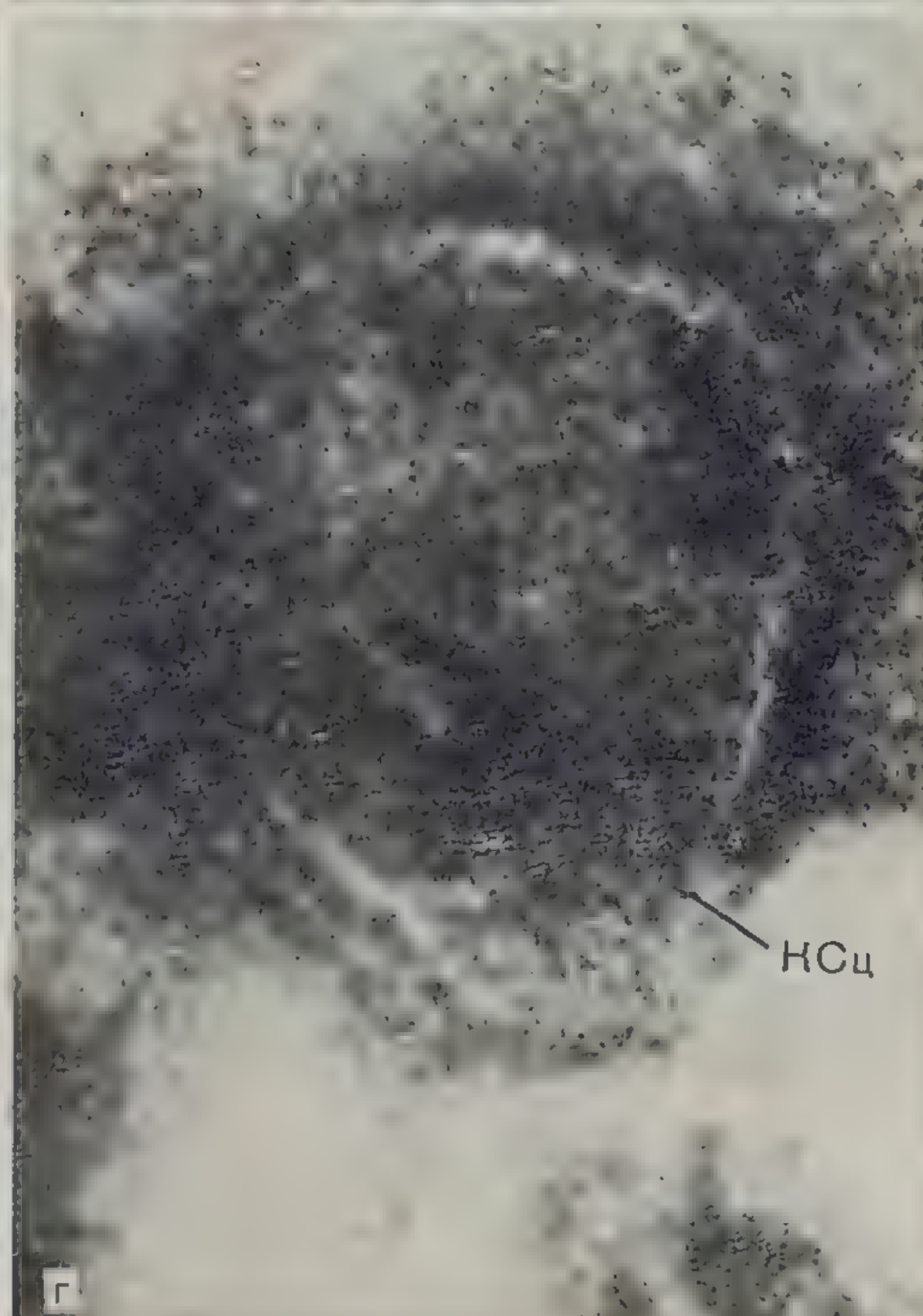
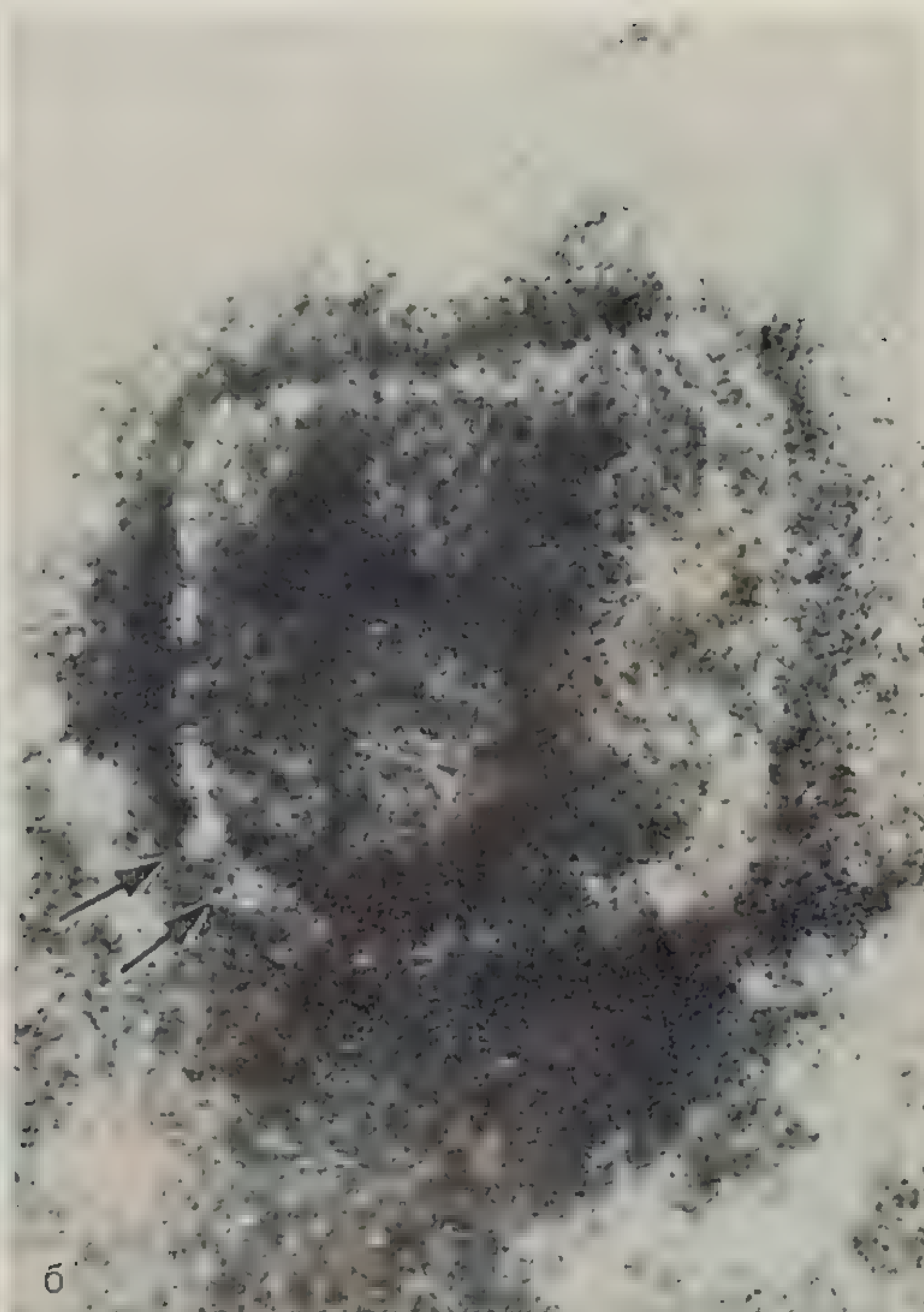
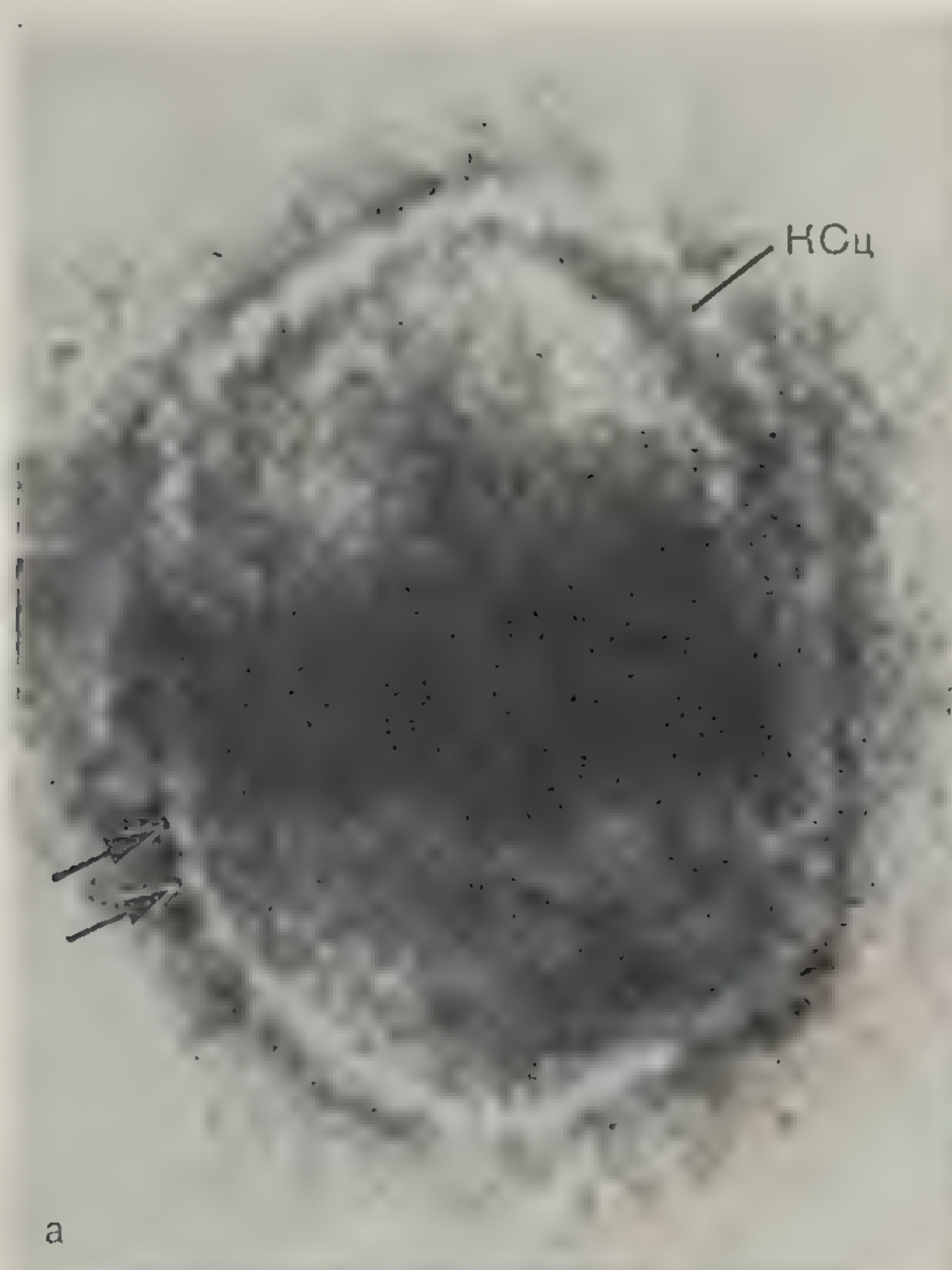
45. Структура онковирусов типа С (негативное контрастирование).

а, б — ув. 600 000; в, г — ув. 760 000.

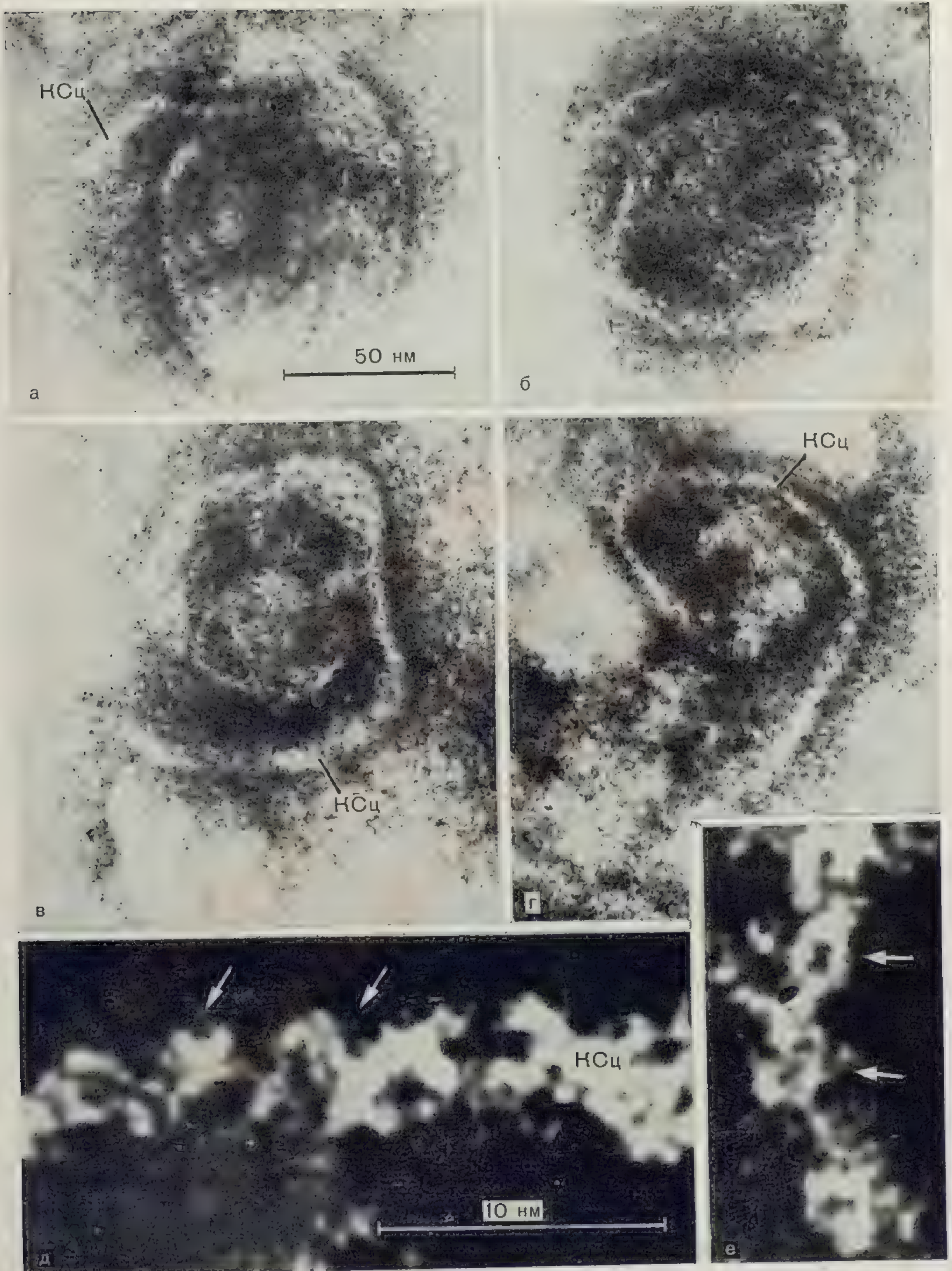
ОВ — оболочка вируса; ВС — внутренний слой;
Сц — сердцевина; КСц — капсула сердцевины.



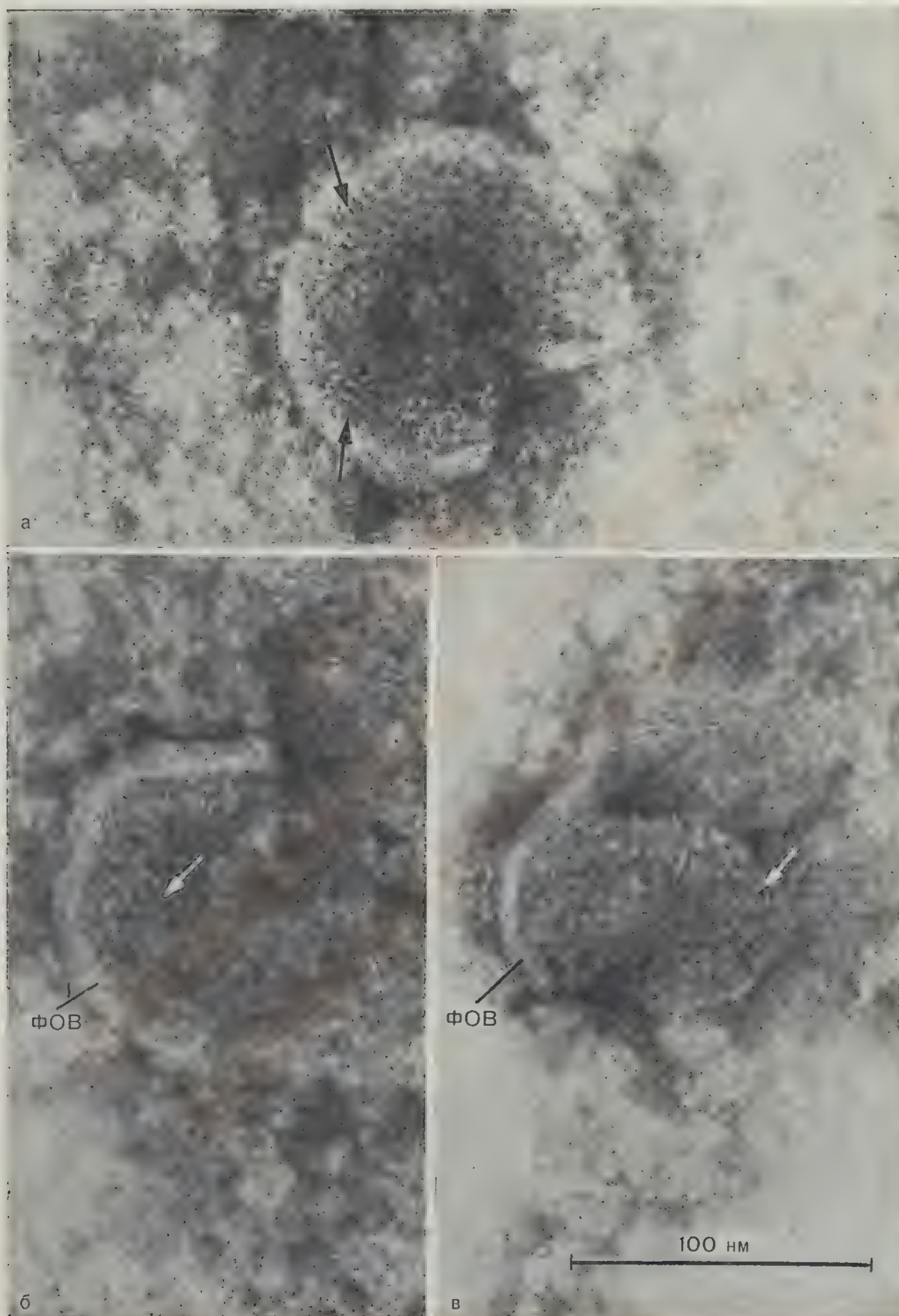
46. Ультраструктура распадающихся сердцевин
онковирусов типа С. Стрелками показаны
капсомеры капсулы сердцевины (КСц) вируса.
Ув. 760 000.



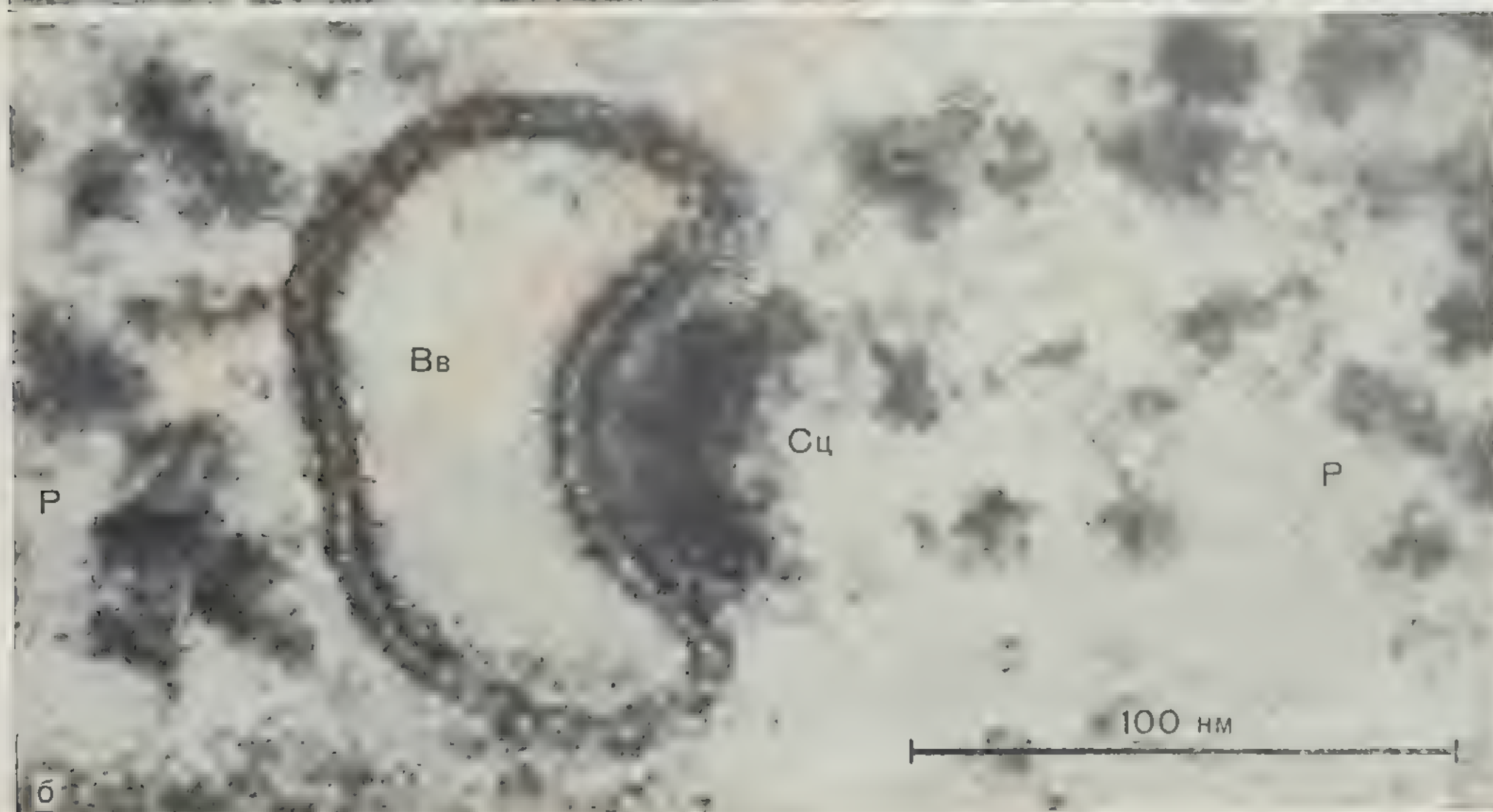
47. Субмикроскопическая организация капсул
сердцевин (КСц) онковирусов типа С.
Стрелками показаны отдельные капсомеры.
а—г — ув. 600 000; д, е, — ув. 5 000 000.



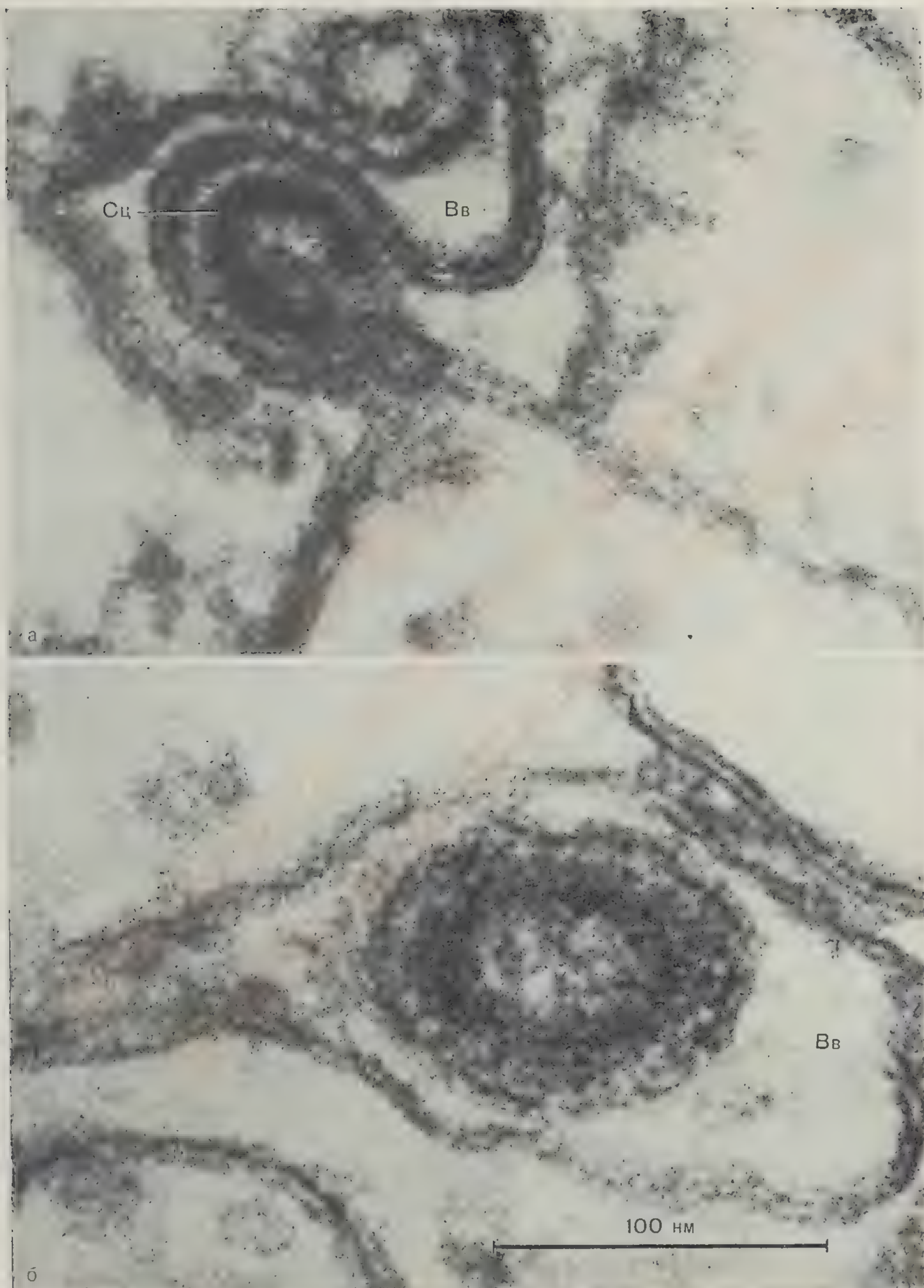
48. Структура сердцевин онковируса клеток
СПЭВ. ФОВ — фрагменты оболочки вируса.
Стрелками показаны тяжи РНП. Ув. 600 000.



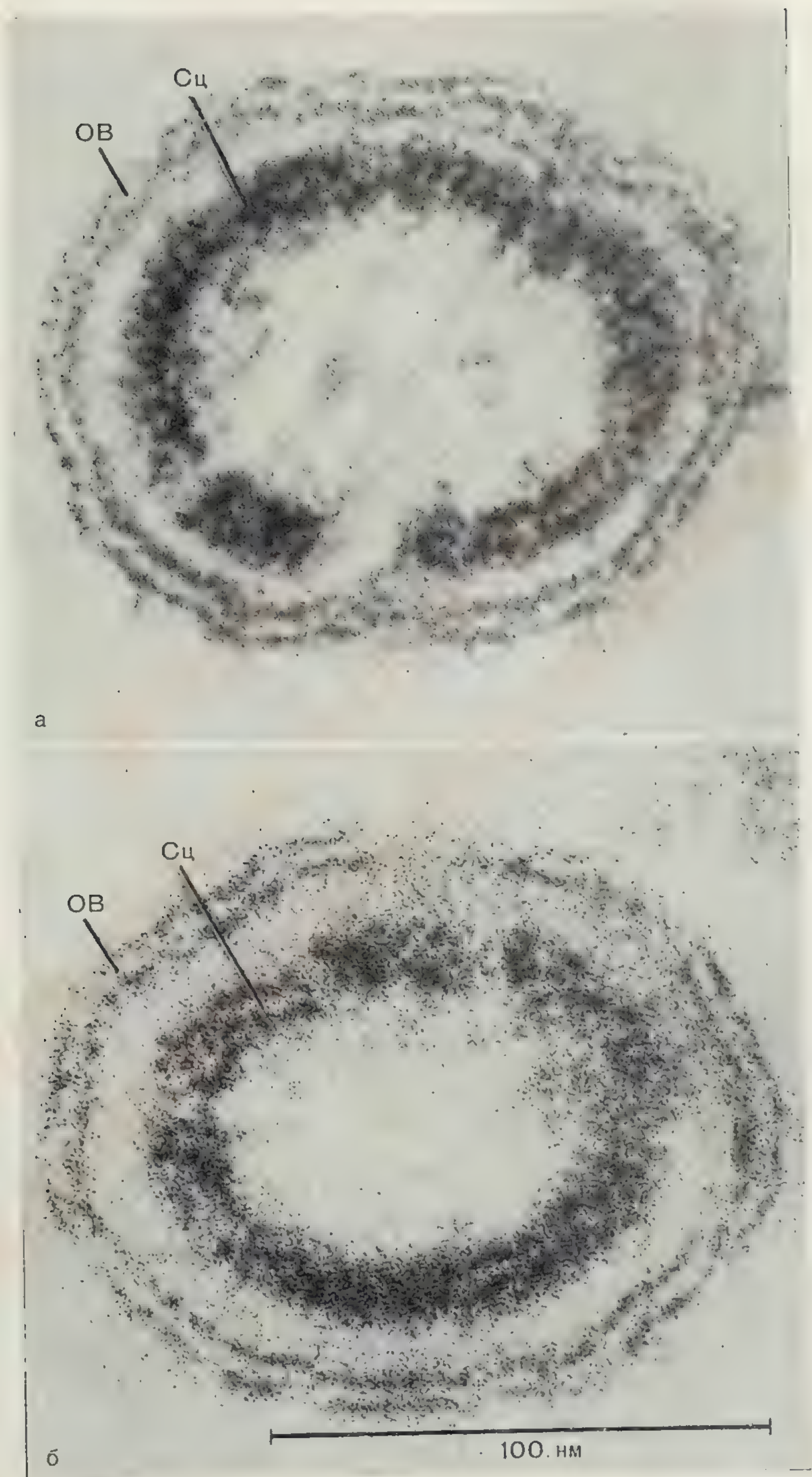
49. Формирование сердцевины (Сц) онковируса типа А (С) на мембране внутриклеточной вакуоли (Вв) клетки L 1210.
а — обзор. Ув. 90 000; б — фрагмент а. Ув. 600 000.
Р — рибосомы; М — митохондрии.



50. Почкование онковирусов типа А (С)
на мембранах внутриклеточных вакуолей (Вв)
в клетках ТК. Ув. 600 000.
Сц — сердцевина онковируса.

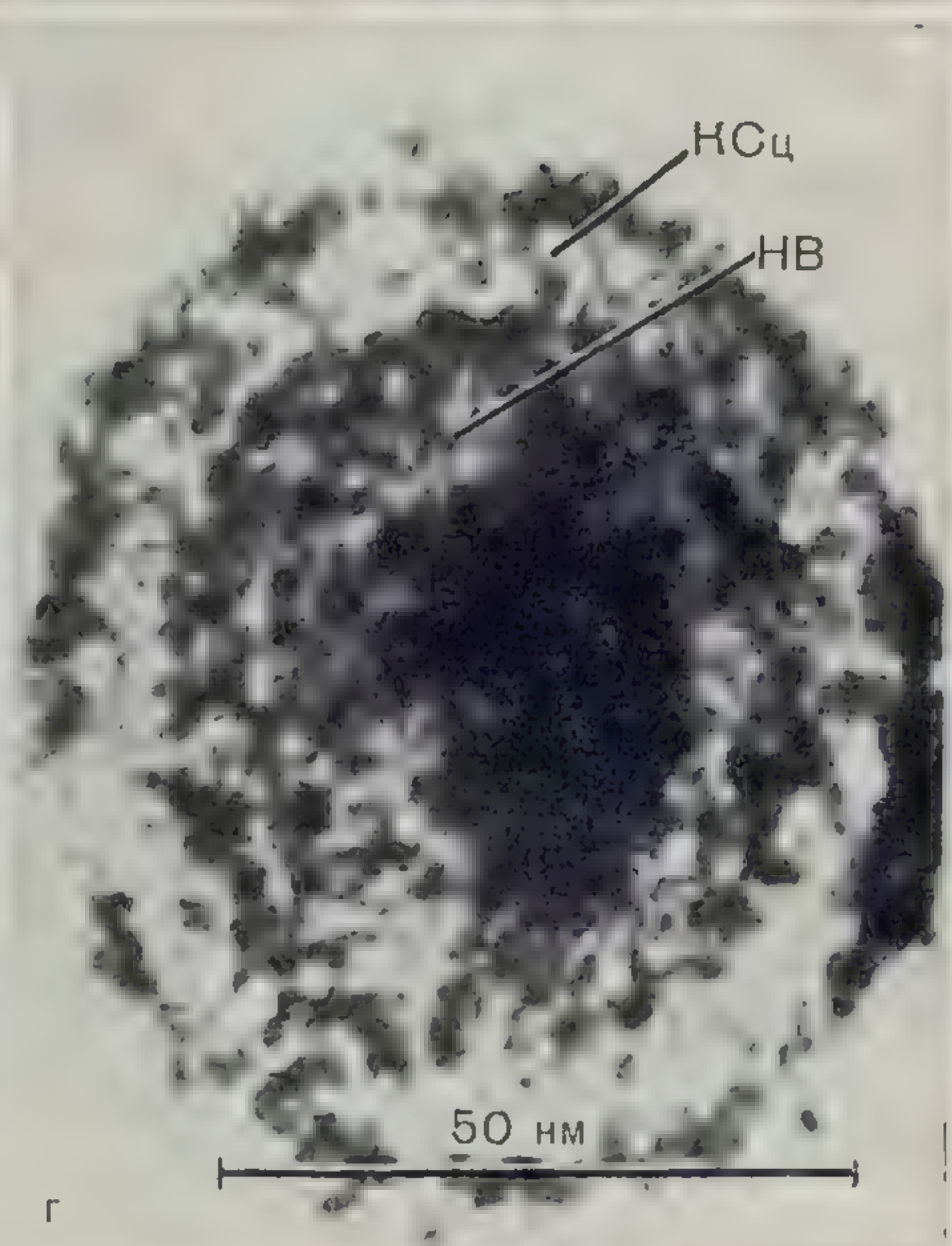
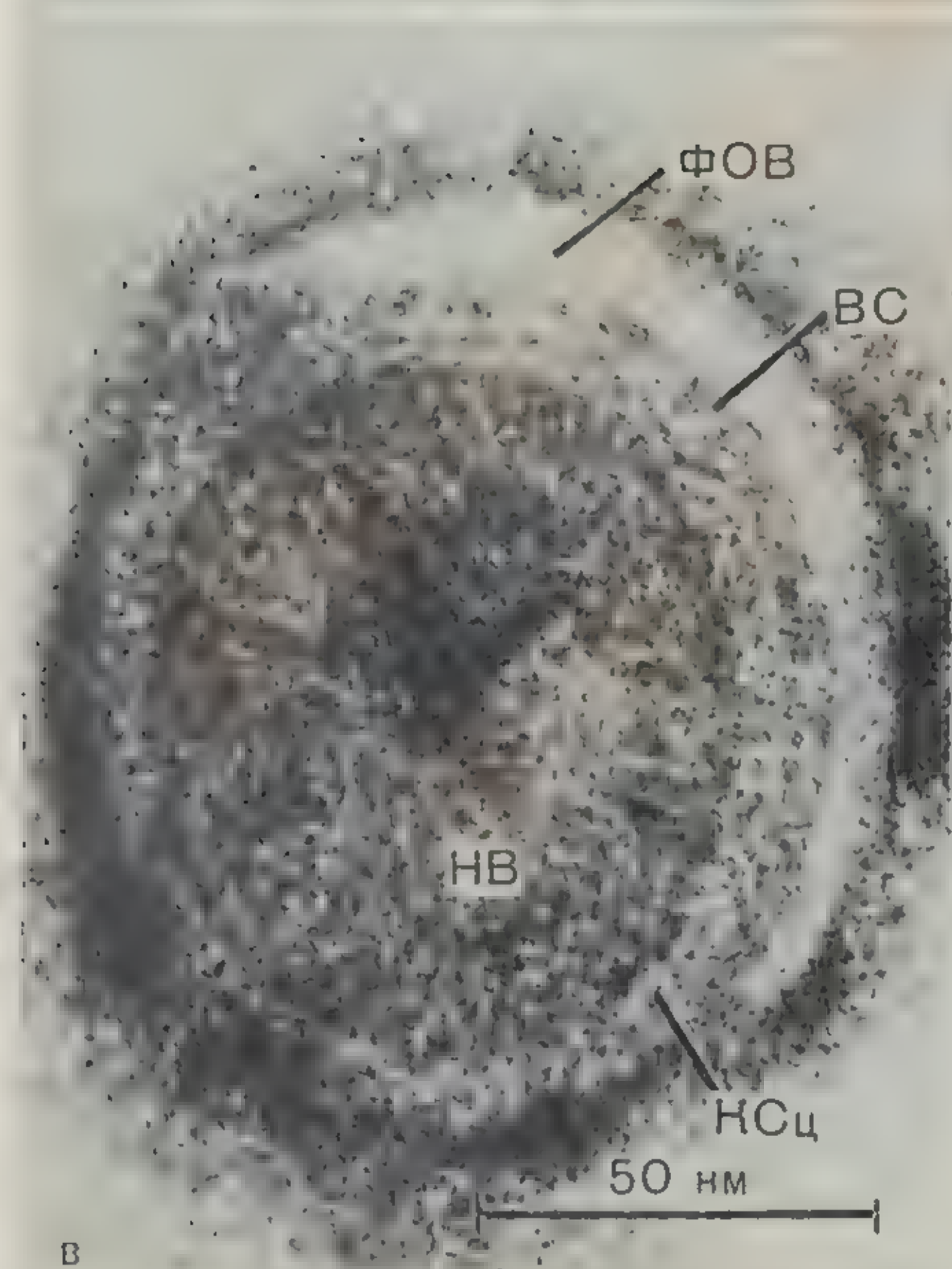
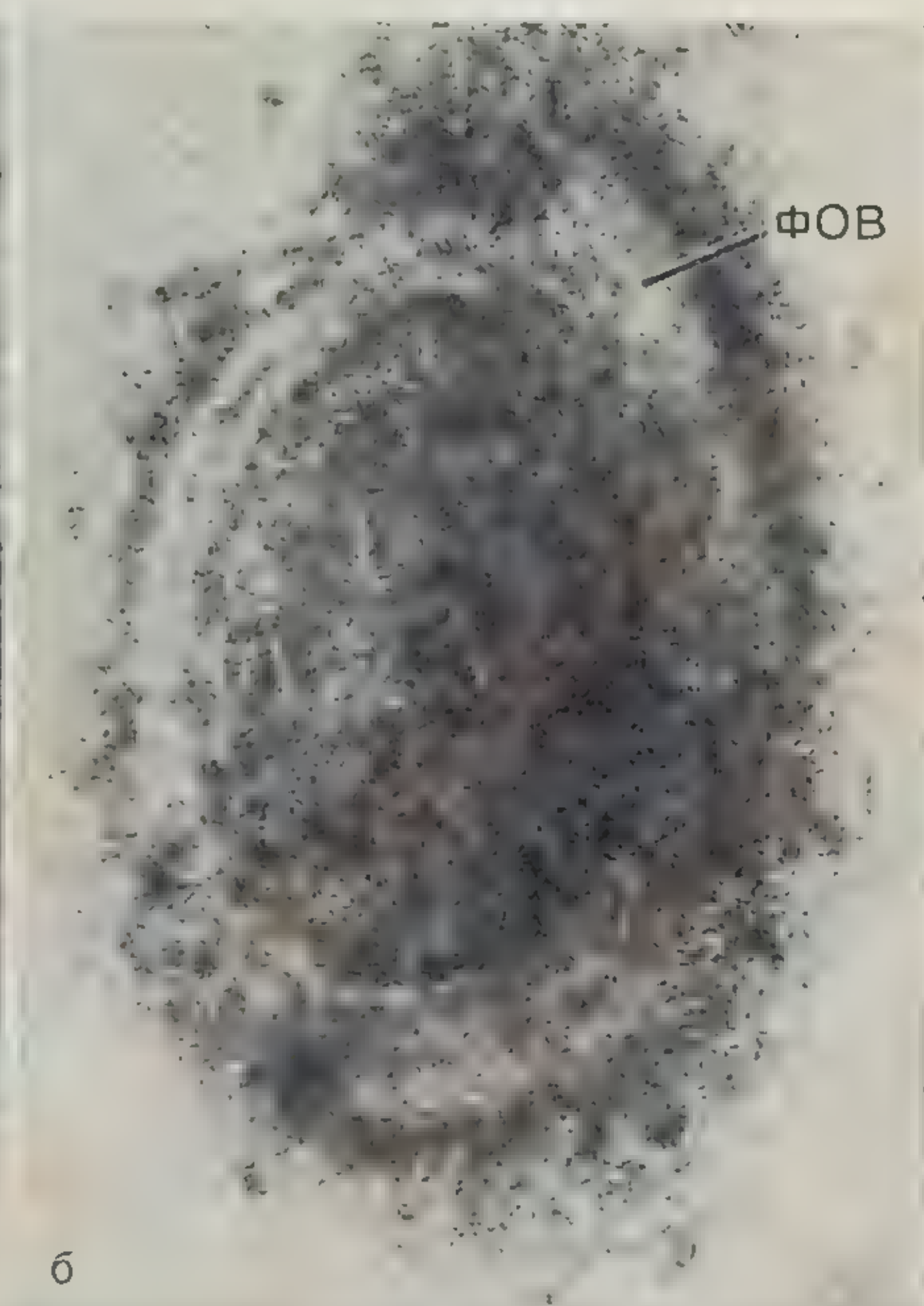
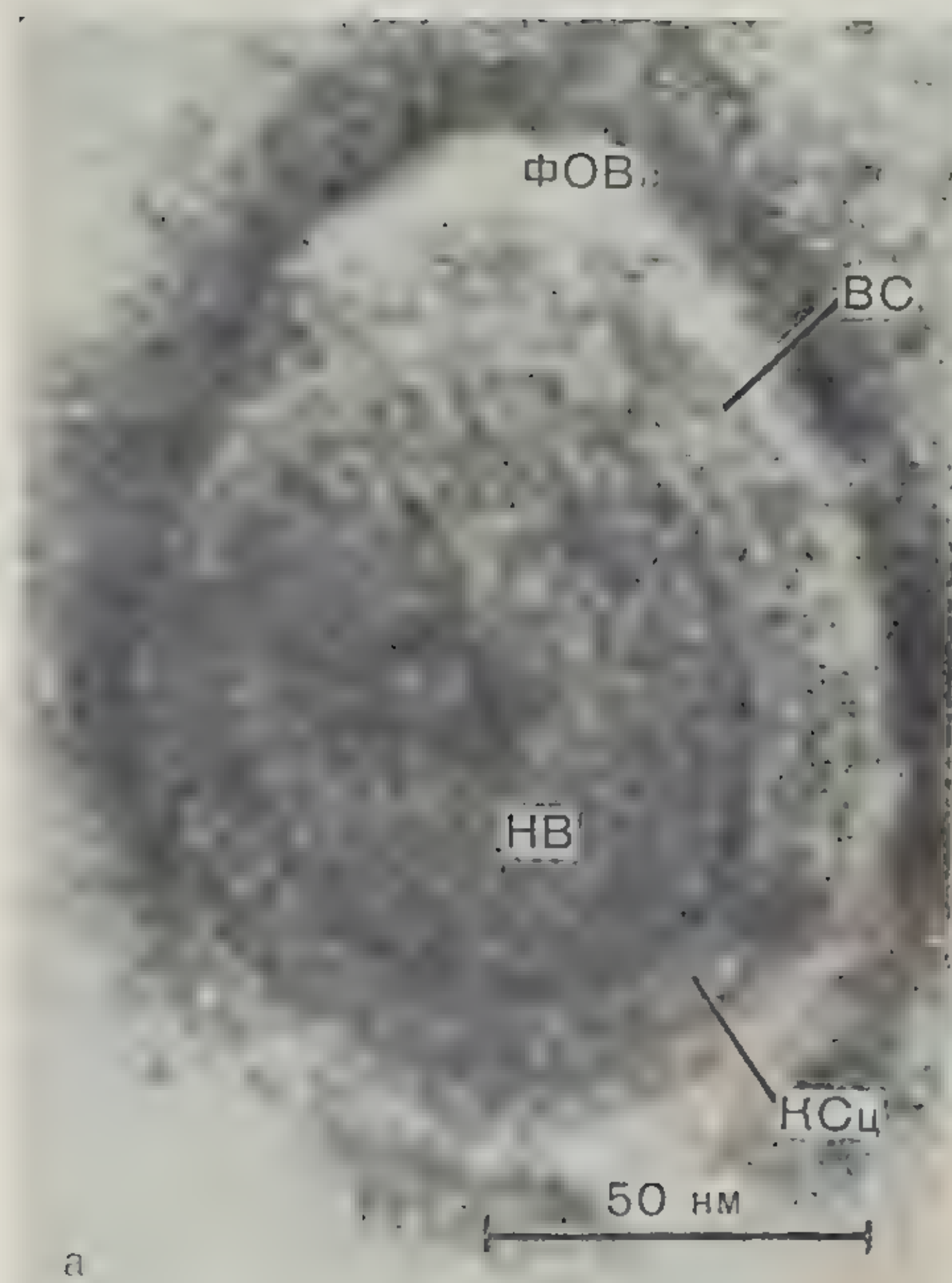


51. Структура внеклеточных онковирусов
типа А (С) — ультратонкие срезы. Ув. 760 000.
ОВ — оболочка вируса; Сц — сердцевина.



52. Структура сердцевинки онковирусов типа А (С)
(негативное контрастирование).

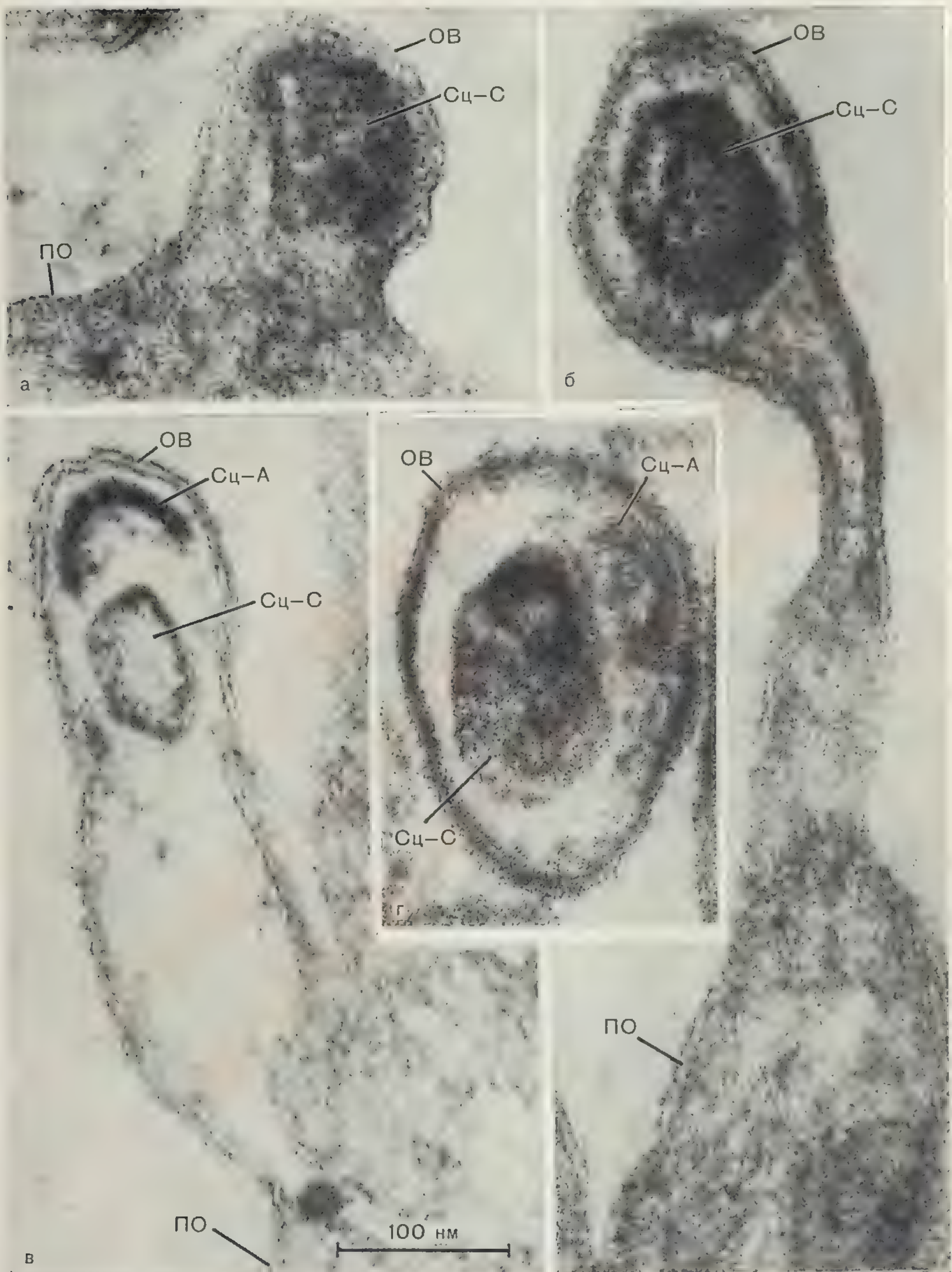
а, в — ув. 760 000; г — ув. 1 000 000.
ФОВ — фрагмент оболочки вируса; ВС — внутренний
слой; НВ — нуклеонд вируса; КСц — капсула
серцевинки вируса.



53. Варианты почкования предсформированных сердцевин типа С. Ув. 300 000.

а, б — формирование онковируса лейкоза Раушера;
в — почкование предсформированной сердцевин

типа С (Сц—С) и сердцевин типа А (Сц—А); г —
внеклеточный онковирус, содержащий сердцевину
типа А (Сц—А) и типа С (Сц—С).
ПО — плазматическая оболочка клетки; ОВ —
оболочка вируса.



фологически сходны между собой (рис. 54—57). В срезах независимо от метода препарирования сердцевин ALSV имеют небольшие размеры (около 36 нм) и отделены от промежуточного слоя электронно-оптически прозрачным пространством. После негативного окрашивания ФБК на оболочке вирионов ALSV видны поверхностные отростки длиной около 7 нм [Calafat et al., 1974]. Вирусы группы ретикулоэндотелиоза птиц (вирус некроза селезенки уток, вирус инфекционной анемии уток, спидциальный вирус цыплят и вирус ретикулоэндотелиоза) представляют собой сферические частицы диаметром приблизительно 110 нм. Они покрыты отростками длиной около 6 нм и диаметром 10 нм. Подсчитано [Kang et al., 1975], что на каждый вирион приходится приблизительно по 100 пепломеров. Расстояние между центрами отростков составляет около 14 нм. Почкующиеся вирионы содержат плотную сердцевину в виде полумесяца диаметром 73 нм. В этих частицах между наружной границей сердцевин и внутренней границей оболочки есть расстояние 8 нм. После отделения вирионов от клетки серд-

цевина, по-видимому, конденсируется до размера 67 нм и электронно-оптически прозрачный центр исчезает. Расстояние между сердцевинной и вирусной оболочкой увеличивается до 14 нм. По морфологии вирионы этих вирусов более напоминают вирусы лейкемии и сарком млекопитающих, чем онковирусы лейкозов и сарком птиц.

Материалы по субмикроскопической организации некоторых представителей группы онковирусов типа С (онковирусов хомячков и мышей) даны на рис. 58—63. В последнее время интересные данные получены при изучении эндогенных онковирусов мышей.

В частности, предполагается, что ксено-тропные эндогенные вирусы могут выполнять «двойную» функцию: при ограниченной экспрессии они служат одним из регуляторов эмбриогенеза, дифференцировки и нормального развития; при увеличении экспрессии они функционируют в основном при старении клеток (аутоиммунные заболевания и рак) [Levi, 1977].

Структура и морфогенез вируса RD-114 и онковирусов свиней, персистирующих в перевиваемых линиях клеток СПЭВ и ИП-3, представлены на рис. 64—67. В последнем случае внеклеточные онковирусы типа А(С) и С ассоциируются с онковирусами типа А(Д) и D (см. рис. 65, 66).

Характерной морфологией и морфогенезом обладают онковирусы лейкоза крупного рогатого скота (рис. 68, 69).

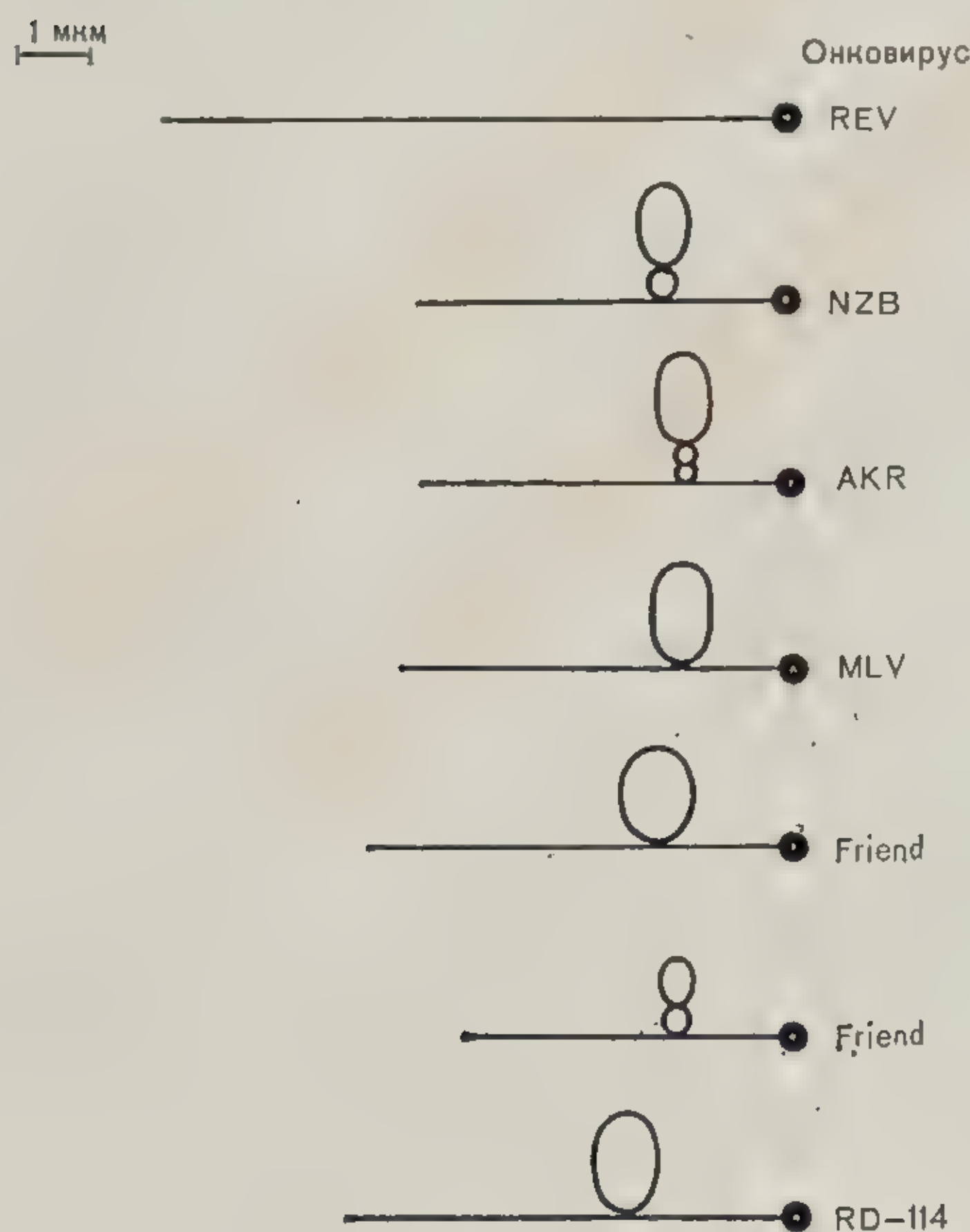
Calafat и соавт. (1977) описали несколько путей формирования этого вируса. Непосредственно под плазматической мембраной или мембраной вакуоли они наблюдали появление одинарного слоя толщиной 4—8 нм. По мере увеличения этого слоя к нему прикреплялись плотные гранулы. После завершения этой стадии развитие могло идти двумя путями: 1) конденсацией гранул в нуклеонид у онковирусов, прикрепленных к клеточной мембране, с последующим почкованием зрелой частицы; 2) почкованием от клетки незрелых онковирусов. Эти авторы предположили развитие BLV в цитоплазме.

Материалы по морфологии некоторых онковирусов обезьян и вирусов, персистирующих в перевиваемых тканях человека, представлены на рис. 70—76.

По мнению Hall и Schidlowsky (1976), типичные частицы типа С млекопитающих отличаются от атипичных частиц, обнаруживаемых, например, в плацентах человека, тем, что сердцевин первых на всех этапах морфогенеза отделены от оболочки пространством меньшей электронно-оптической плотности. К типичным вирусам авторы относят вирус HL-23, вирусы мышинных лейкозий, RD-114, плацентарный вирус бабуинов и ряд других вирусов.

54. Формирование вируса саркомы Рауса.

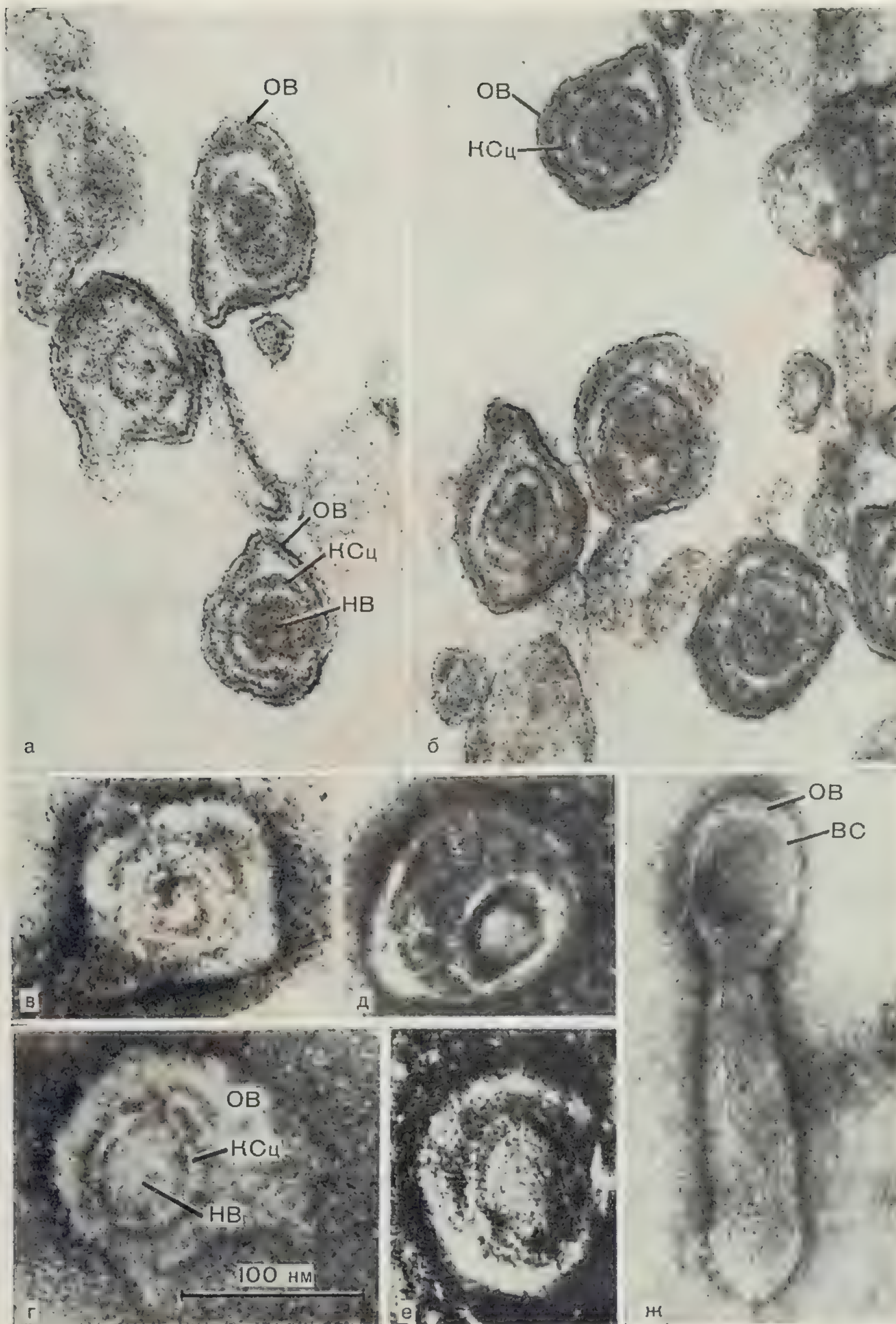
а — скопление формирующихся (ФС) и сформированных (Сц) сердцевин онковируса, окруженное полирибосомами (ПР). Ув. 250 000;
б—г — различные этапы почкования онковируса;
д — внеклеточный онковирус саркомы Рауса.
ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевин;
НВ — нуклеонид вируса; ПО — плазматическая оболочка клетки. Ув. 300 000.



55. Структура внеклеточных вирионов онковируса саркомы Рауса. Ув. 300 000.

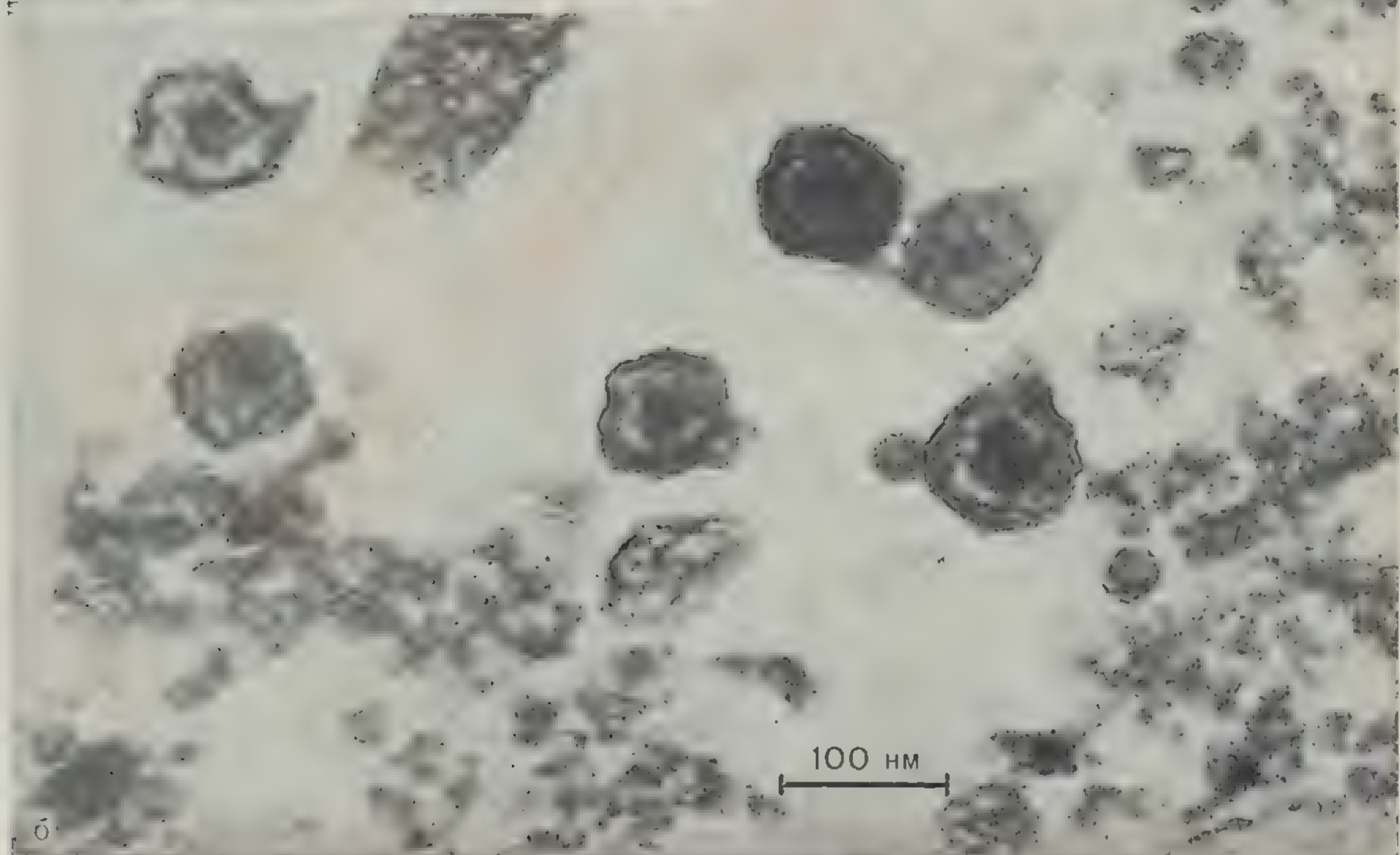
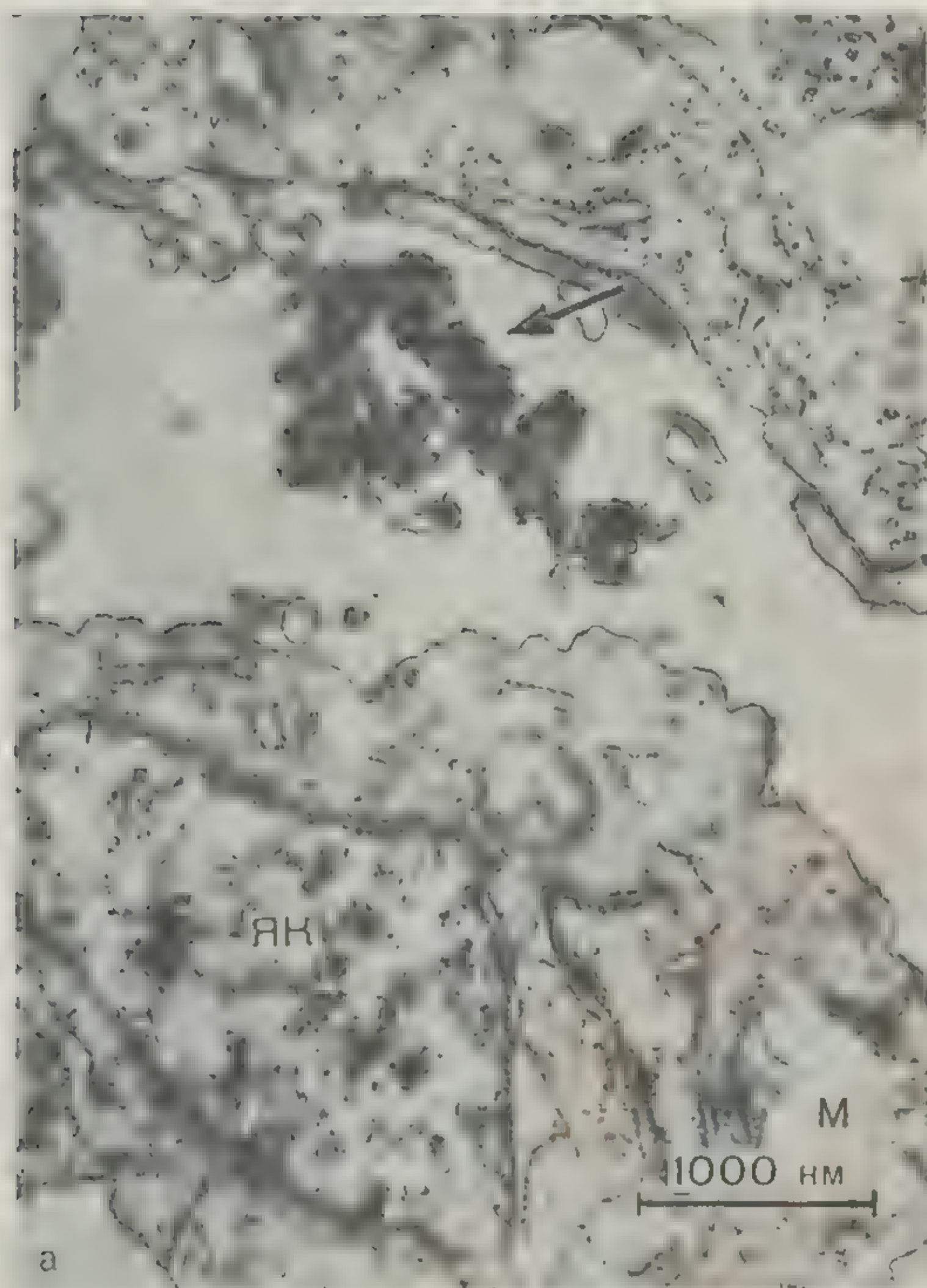
а, б — ультратонкие срезы; в—ж — негативное контрастирование.

ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевинки вируса; НВ — нуклеонид вируса; ВС — внутренний слой.



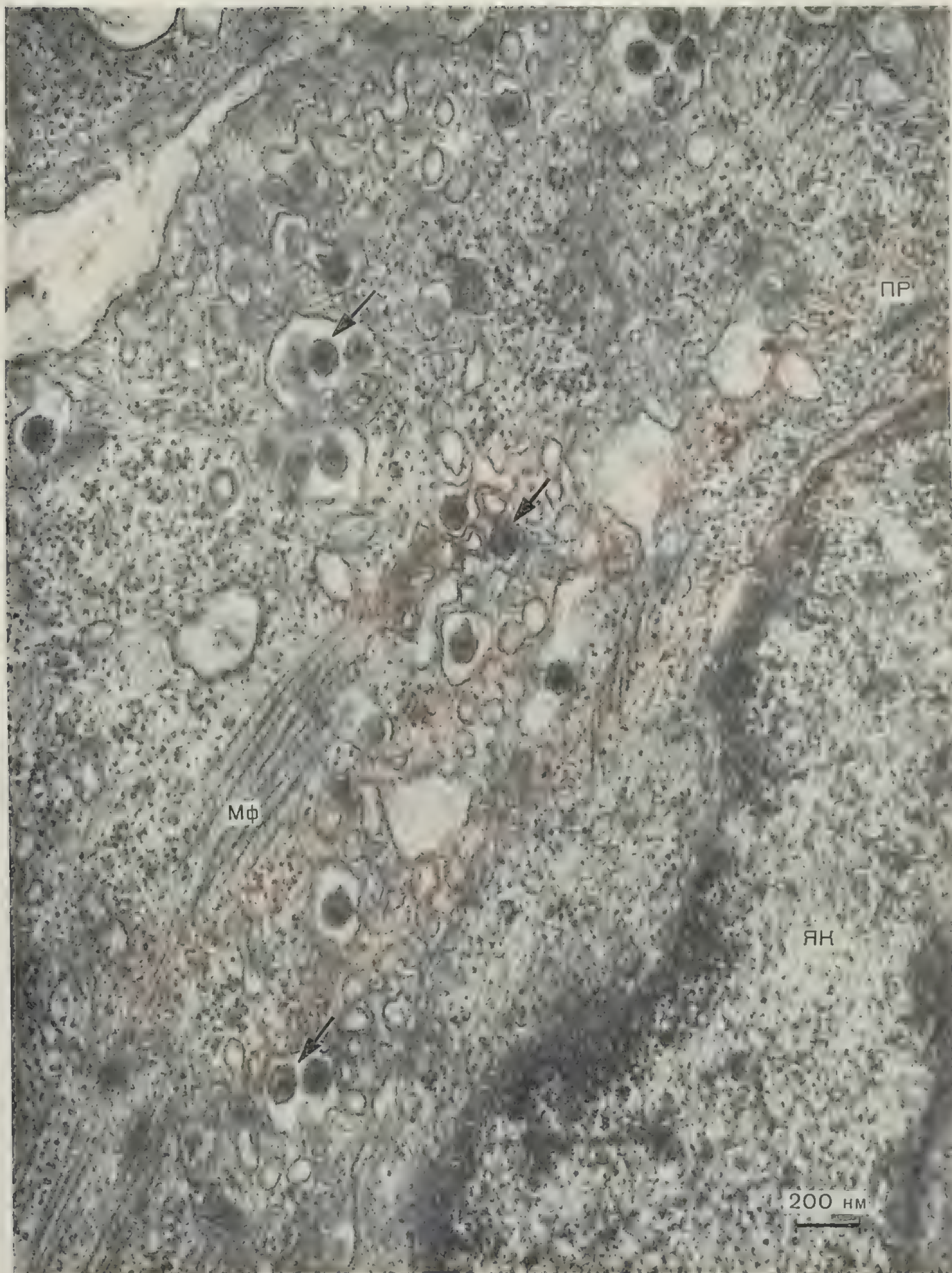
56. Морфология вируса миелобластога птиц.

а — обзор, Ув. 20 000; б — внеклеточные онковирусы.
Ув. 180 000.
Скопление онковируса показано стрелкой. ЯК—ядро
клетки; М — митохондрии.



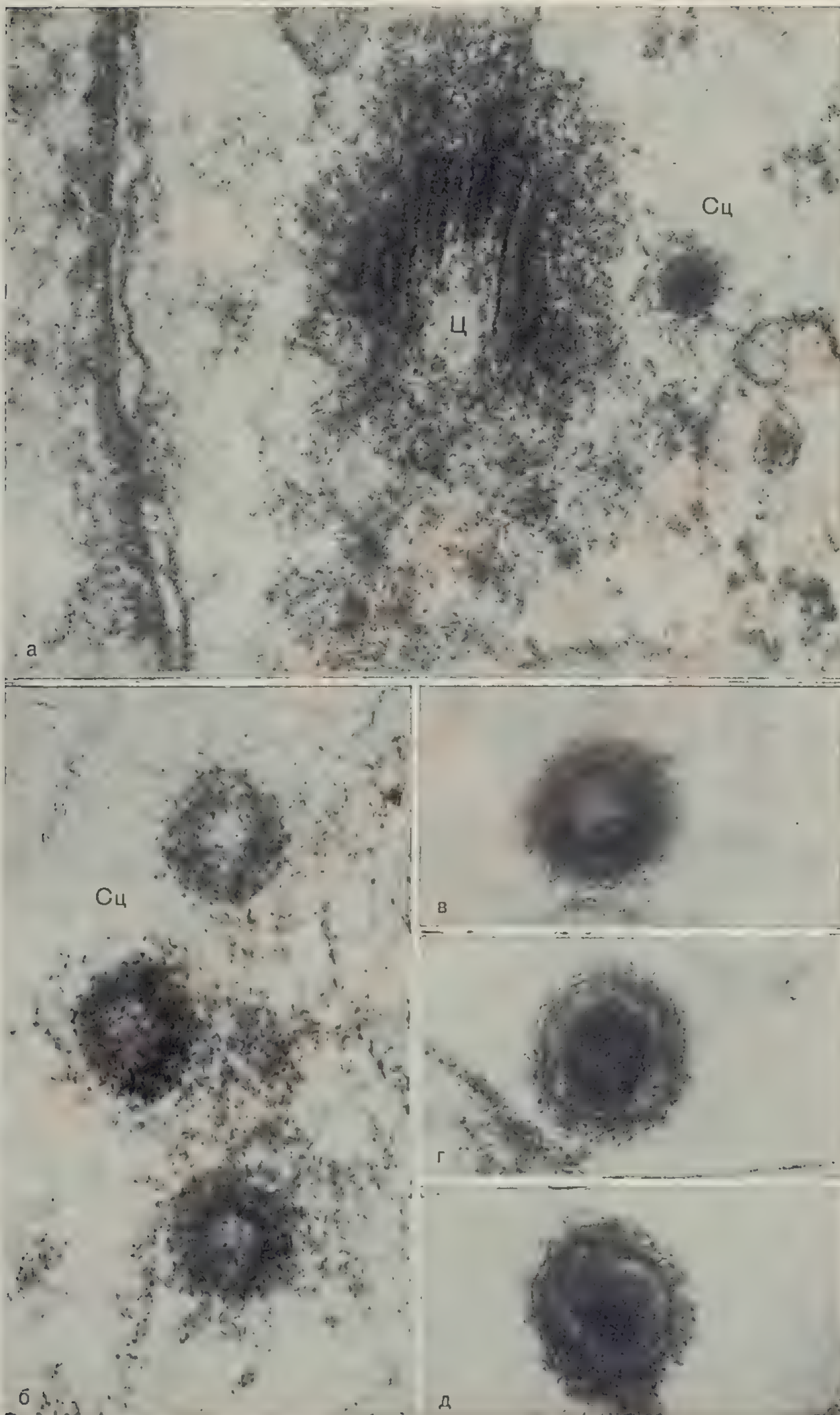
57. Участок клетки первичной культуры куриного эмбриона. Ув. 60 000.

Онковирусы показаны стрелкой. ЯК — ядро клетки;
ПР — полирибосомы; МФ — микрофибриллы.



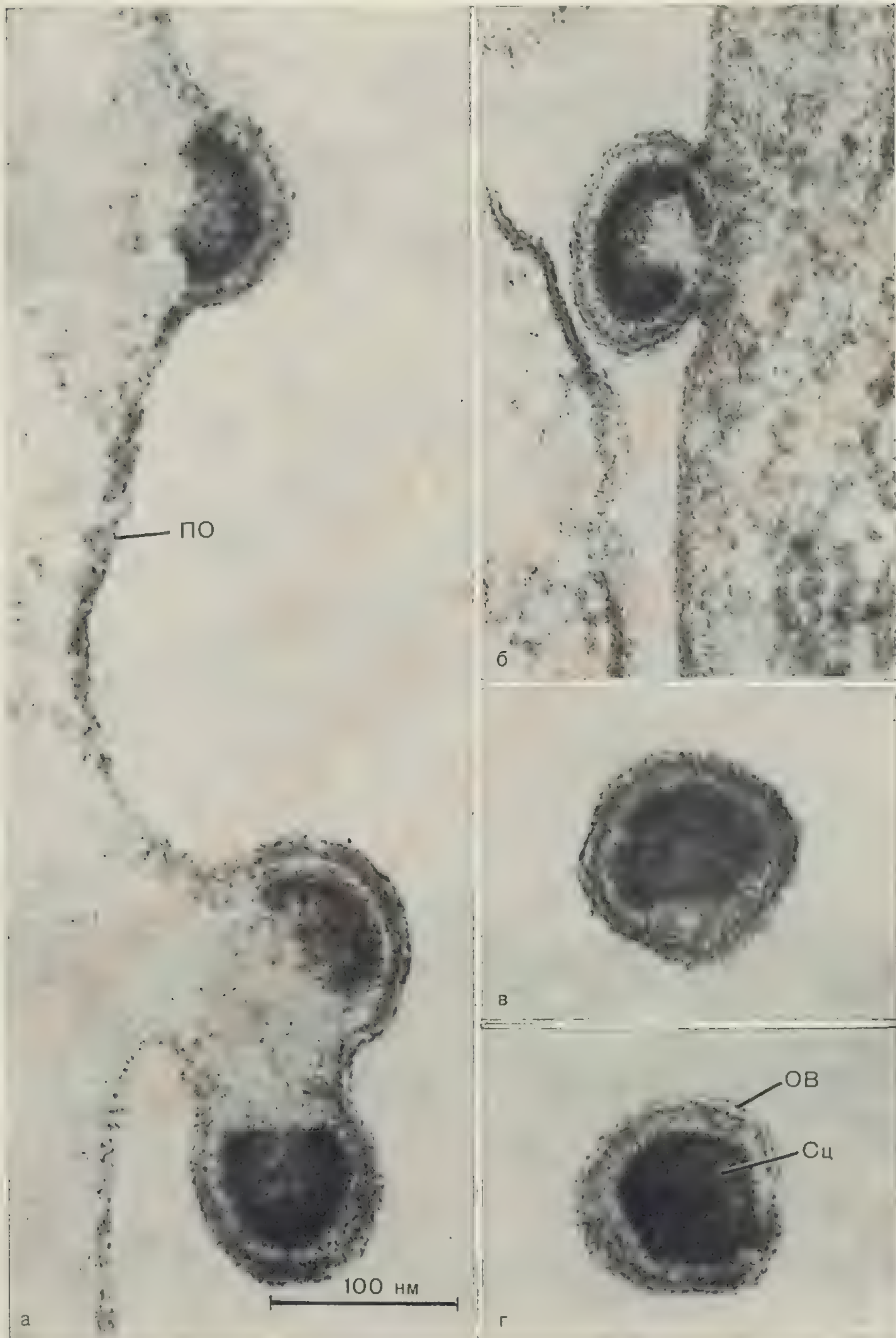
58. Морфогенез онковируса клеток СНО (яичника
китайского хомячка) (препарат U. Heine).

а — локализация сердцевин (Сц) вируса вблизи
центриоли (Ц). Ув. 150 000; б — скопление сердцевин
вируса (Сц) в цитоплазме; в, г — внеклеточные
онковирусы типа А; д — внеклеточный онковирус
типа С. Ув. 300 000.



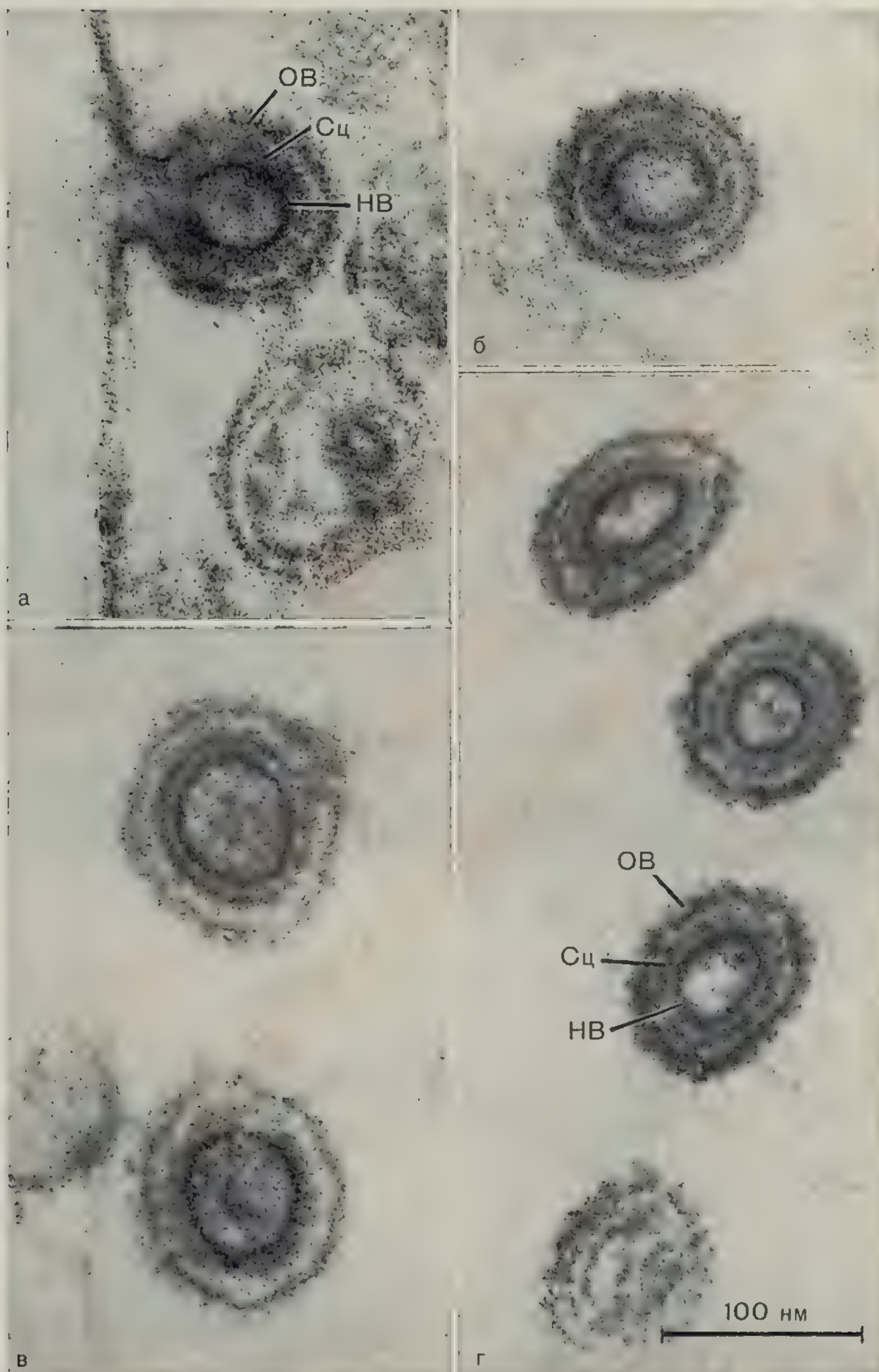
59. Морфогенез онковируса лейкоза мышей
(вируса Мазуренко). Ув. 300 000.

а, б — этапы почкования онковируса типа А(С);
в — внеклеточная переходная форма онковируса от
типа А к типу С; г — внеклеточный онковирус типа С.
ОВ — оболочка вируса; Сц — сердцевина; ПО —
плазматическая оболочка клетки.



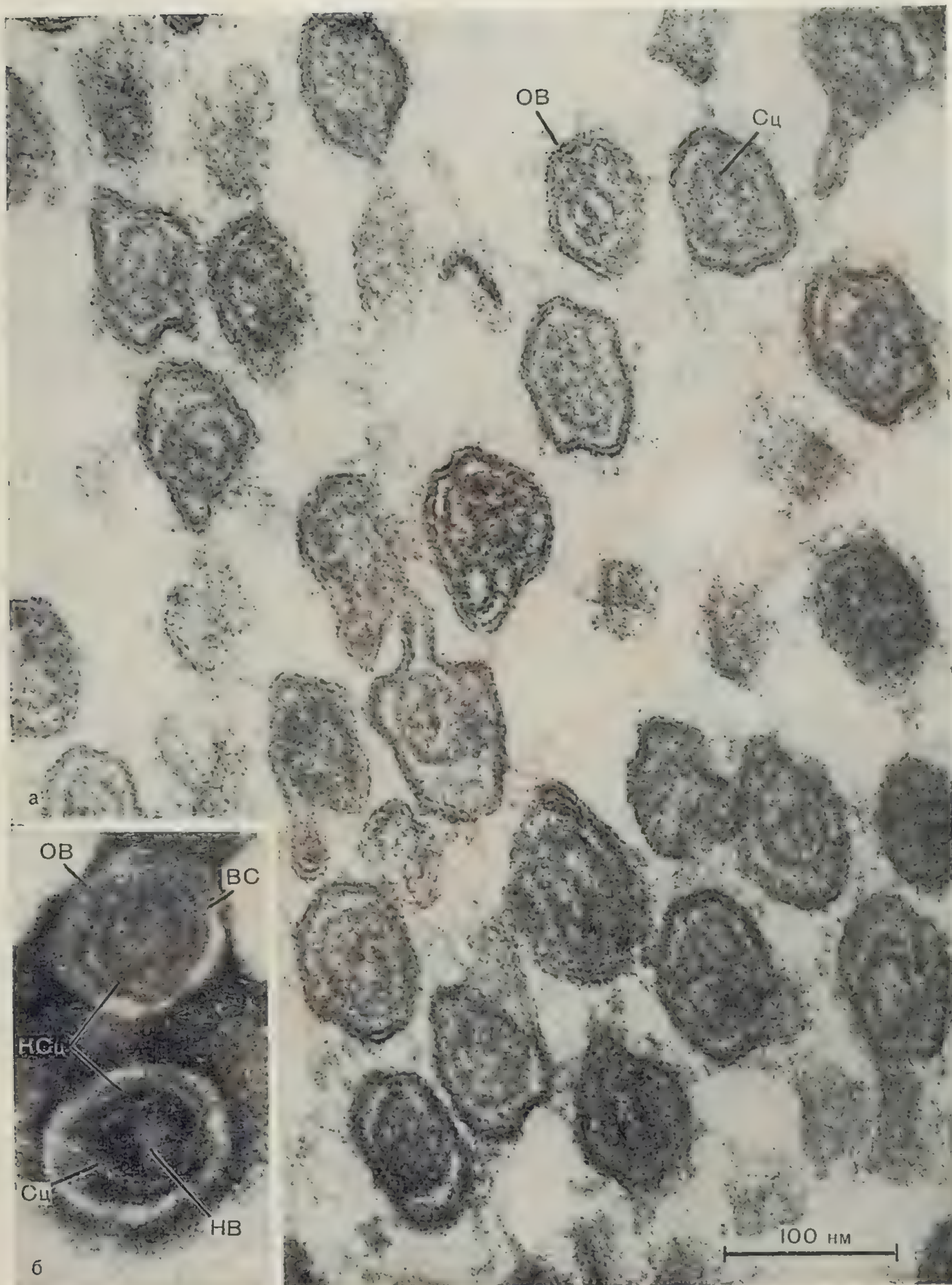
60. Структура и морфогенез онковируса типа А (С)
лимфосаркомы мыши (вируса ОИ). Ув. 300 000.

а — почкование онковируса; б-г — структура
внеклеточных онковирусов типа А(С). ОВ —
оболочка вируса; Сц — сердцевина; НВ — нуклеонд
вируса.



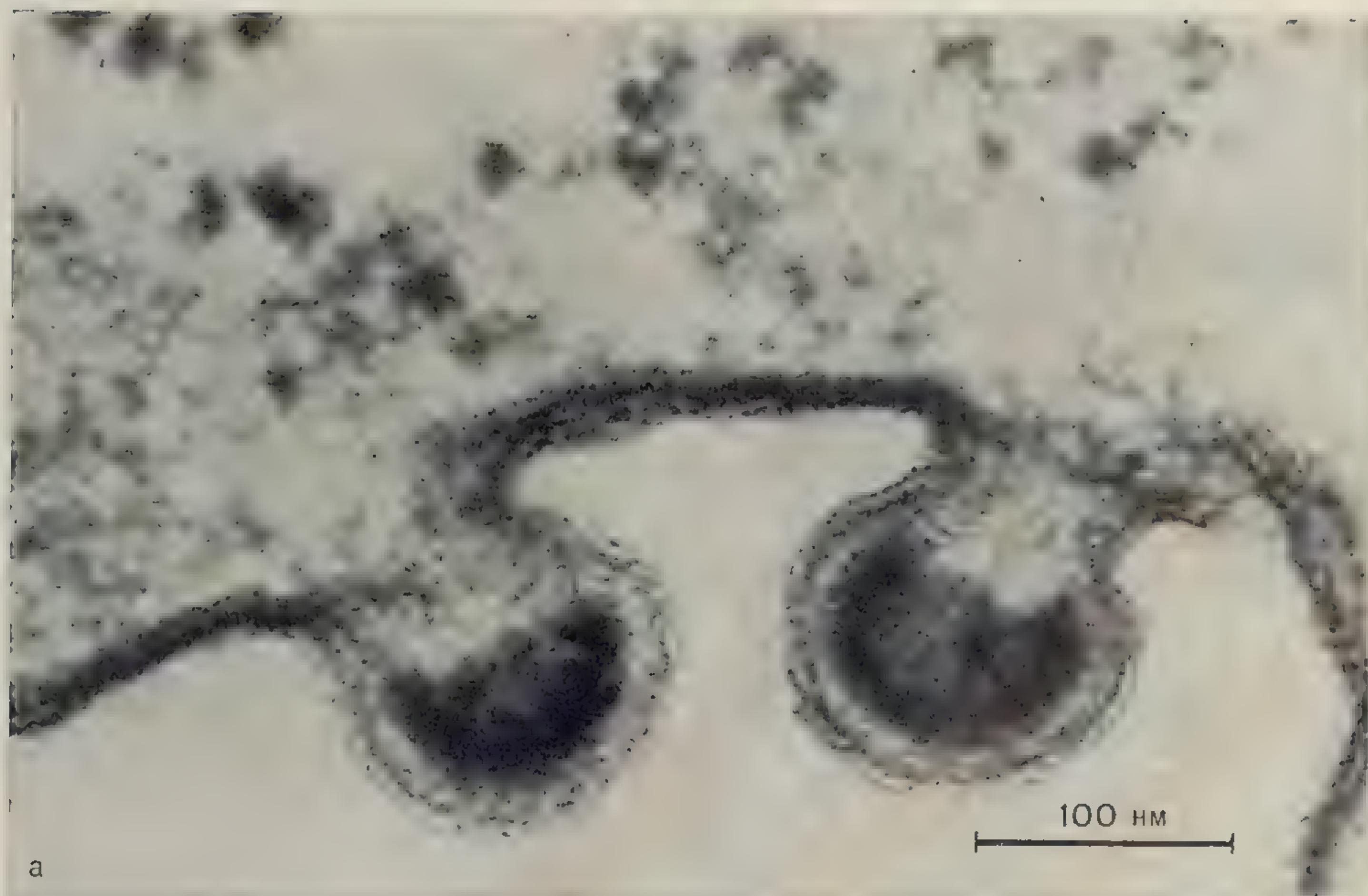
61. Структура внеклеточных онковирусов типа С (вирус ОИ). Ув. 300 000.

а — ультратонкий срез; б — негативное контрастирование. ОВ — оболочка вируса; ВС — внутренний слой; Сц — сердцевина; КСц — капсула сердцевины; НВ — нуклеоид вируса.



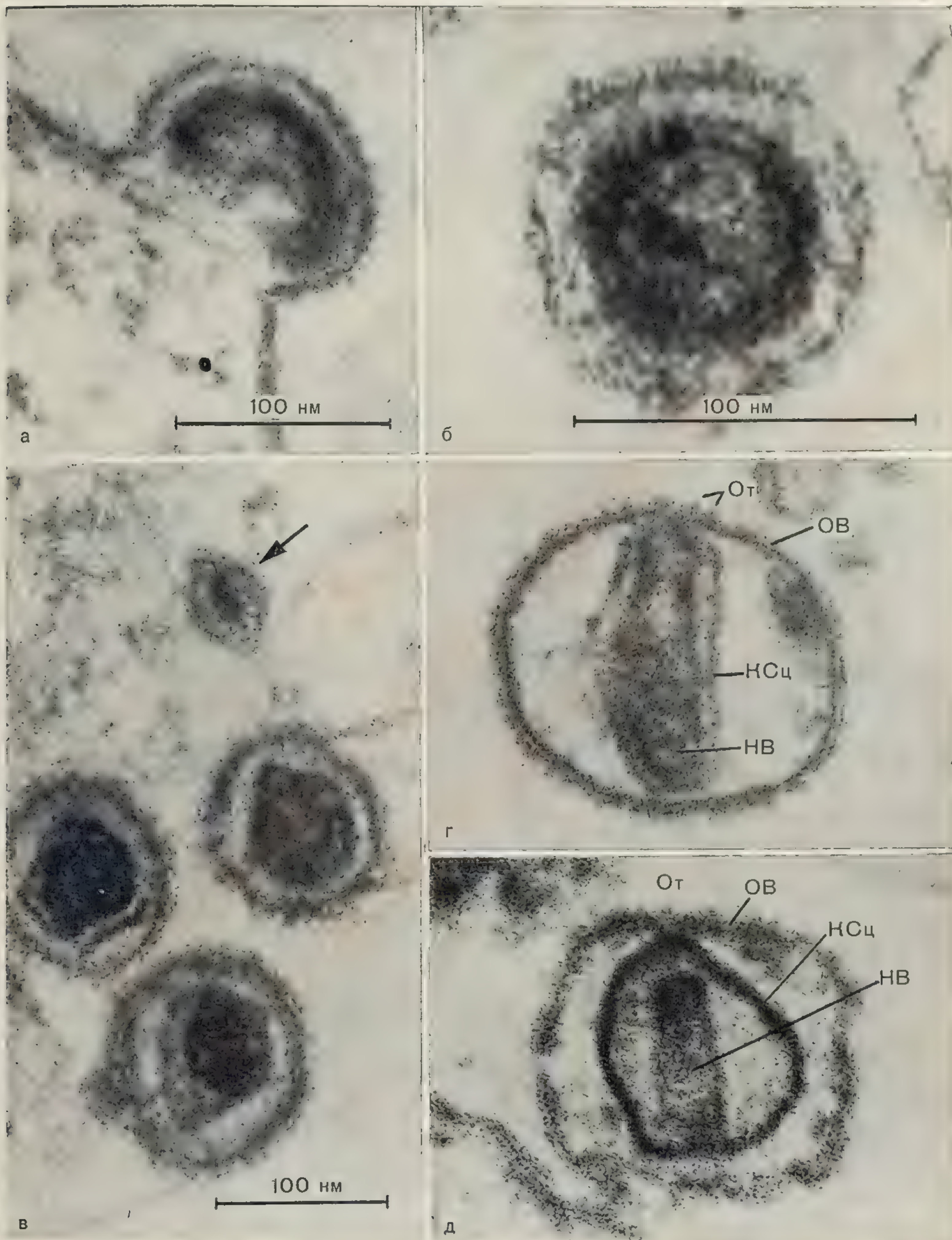
62. Морфология онковируса L-клеток мышей.

а — почкование онковирусов. Ув. 300 000;
б — внеклеточный онковирус типа А(С). Ув. 500 000;
в — скопление внеклеточных онковирусов типа С.
Ув. 150 000.



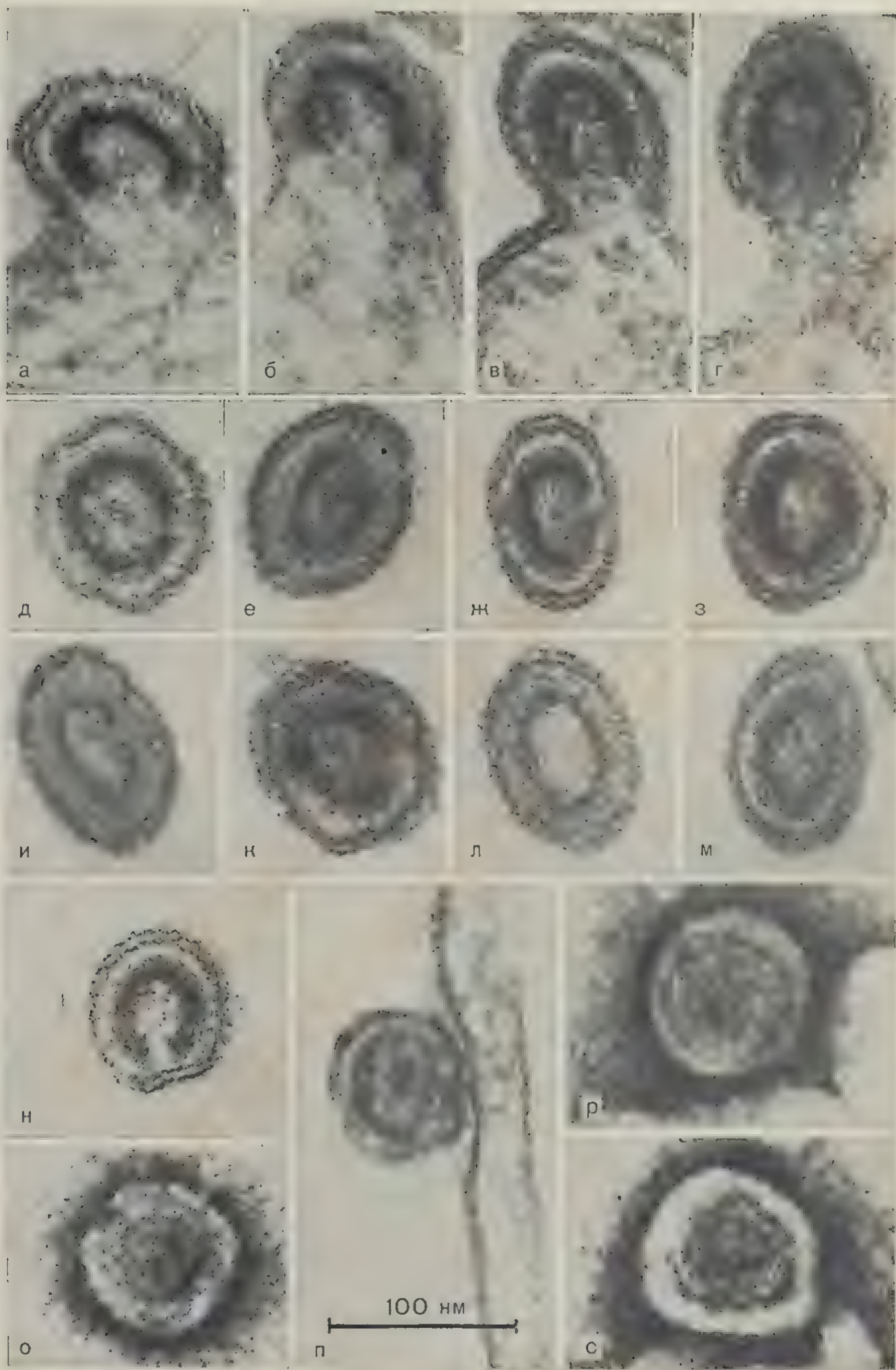
63. Структура и морфогенез онковируса острого лейкоза мышей (BL-L).

а — почкование онковируса. Ув. 380 000;
б — внеклеточный онковирус типа А. Ув. 600 000;
в — обычные и минимальная (показано стрелкой) формы онковируса типа С. Ув. 300 000; г, д — внеклеточные онковирусы типа С, сердцевин которых окружены отчетливо выраженной капсулой (КСц). Ув. 300 000.
От — отростки оболочки вируса; ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевин вируса; НВ — нуклеонд вируса.



64. Структура и морфогенез эндогенного онковируса кошек (RD-114). Ув. 300 000.

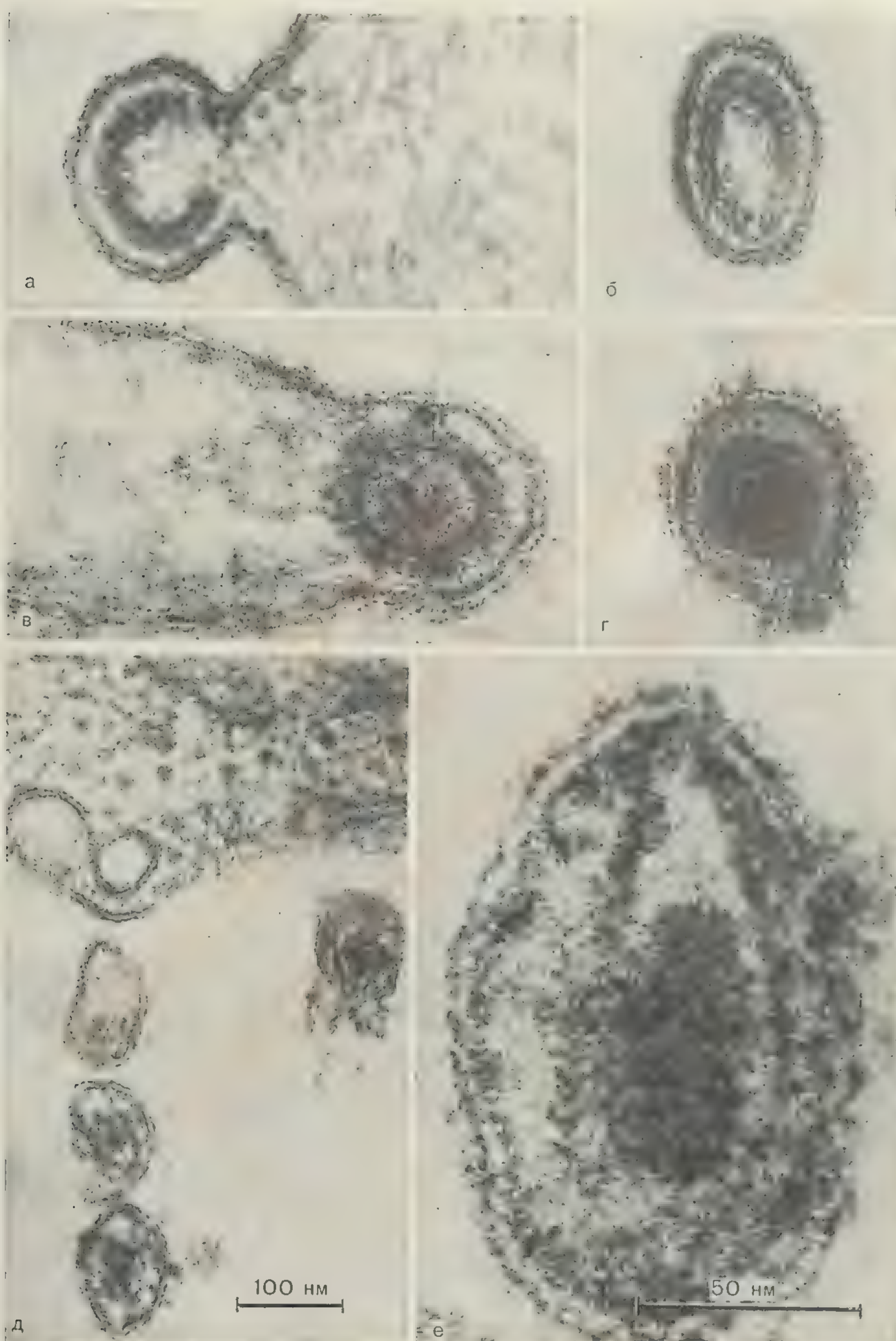
а—г—почкование онковируса; д—п — внеклеточные онковирусы типа А (С), ультратонкие срезы; о — онковирус типа А(С), негативное контрастирование, п — онковирус типа С, ультратонкий срез; р, с — онковирусы типа С, негативное контрастирование.



65. Морфогенез онковирусов перевиваемой линии
клеток свиней (СПЭВ).

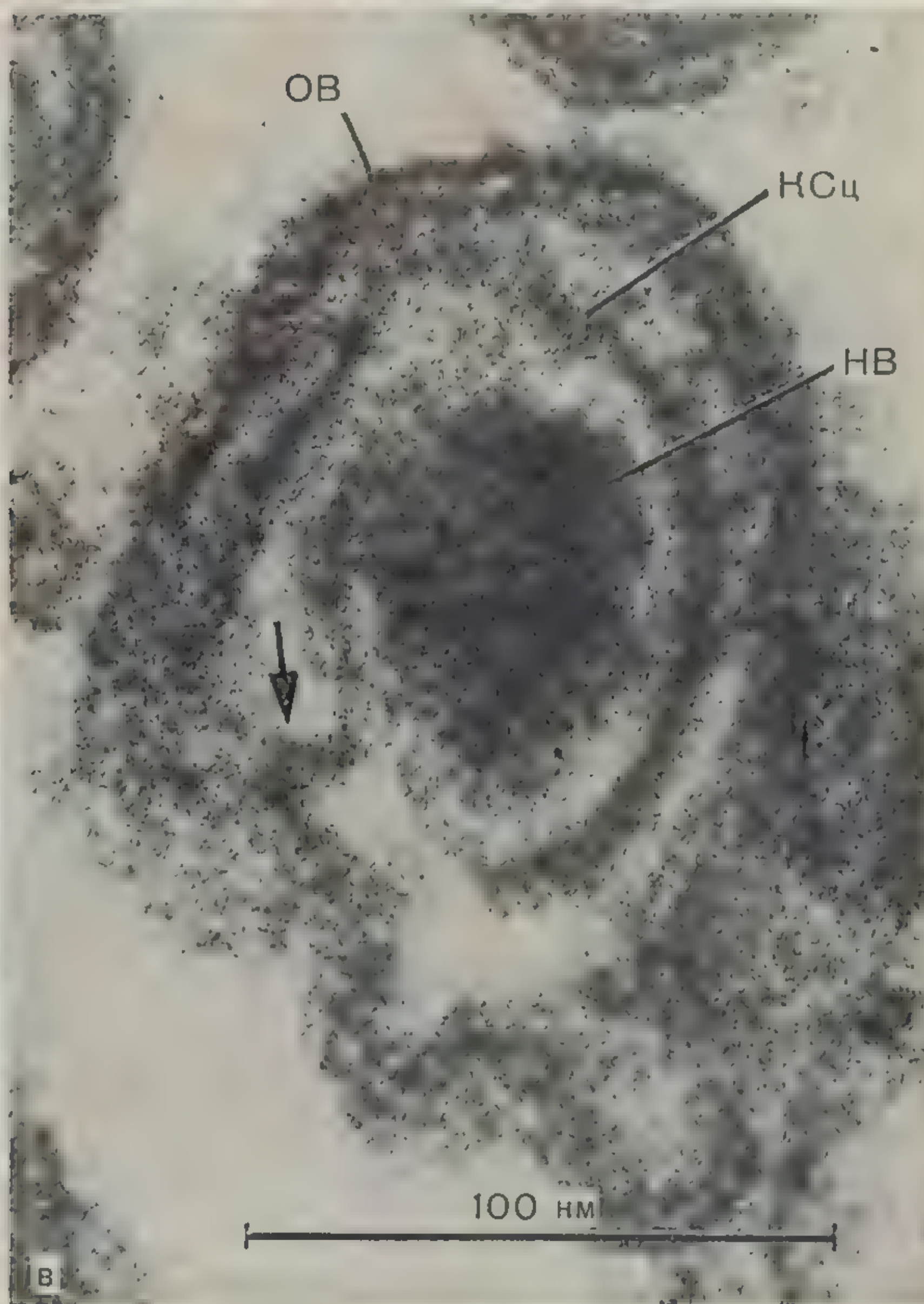
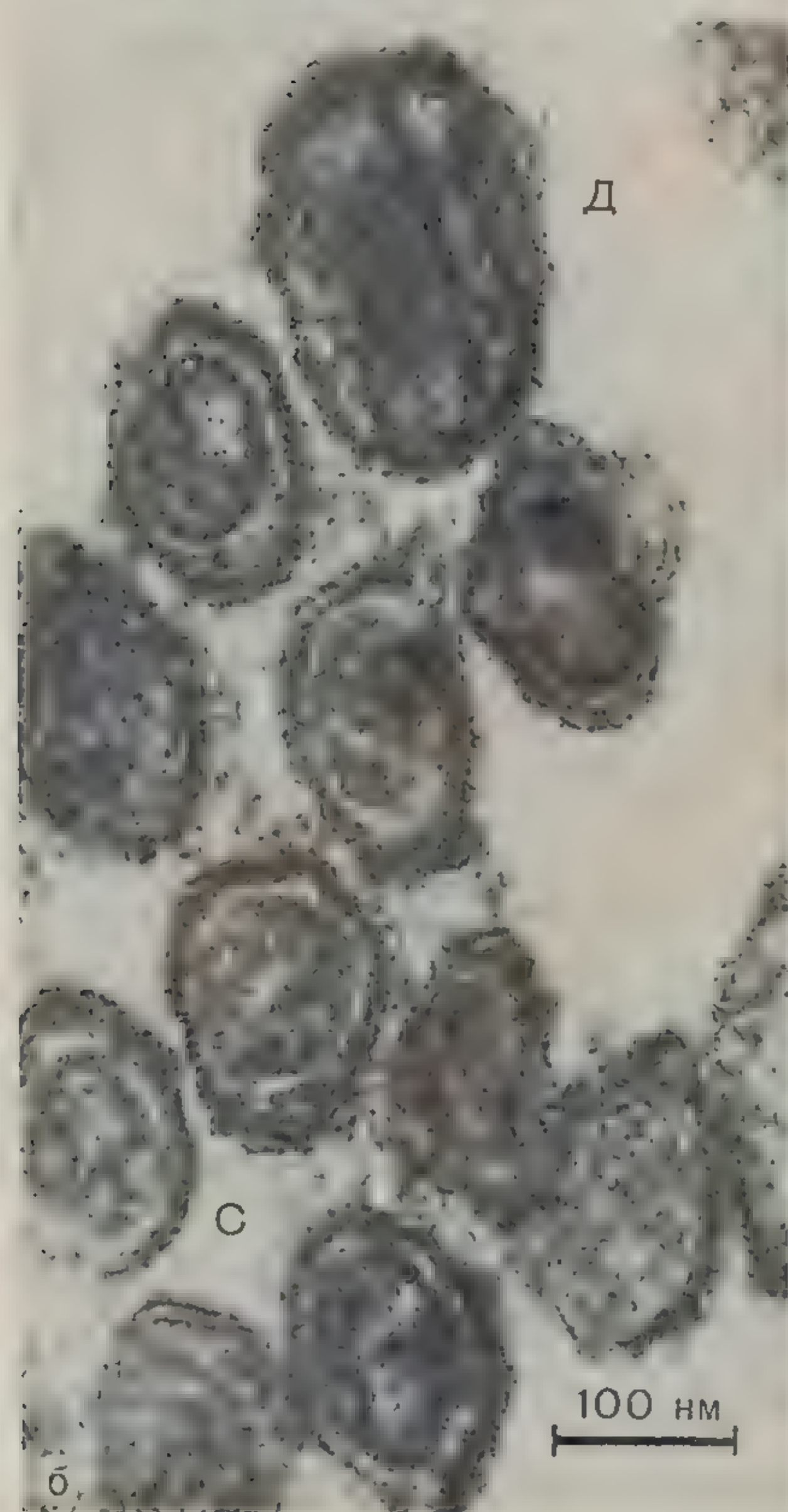
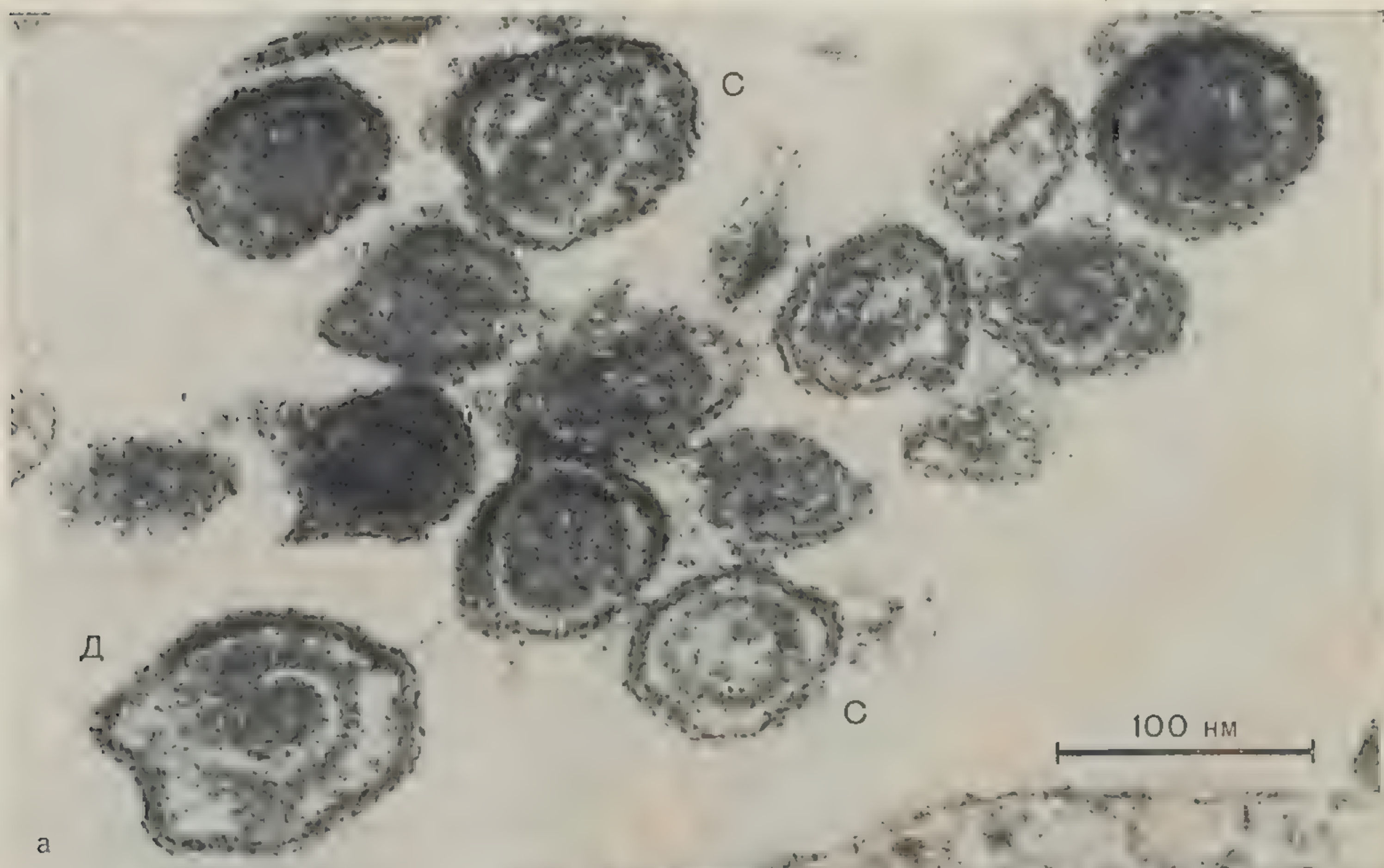
а — почкование онковируса типа А(С);
б — внеклеточный онковирус типа А(С);

в — почкование онковируса типа А(Д);
г — внеклеточный онковирус типа С. Ув. 300 000;
д — скопление онковирусов типа Д. Ув. 180 000;
е — ультраструктура онковируса типа Д.
Ув. 760 000.



66. Ультраструктура внеклеточных онковирусов
типа С и D, персистирующих в культуре клеток
СПЭВ (ультратонкие срезы).

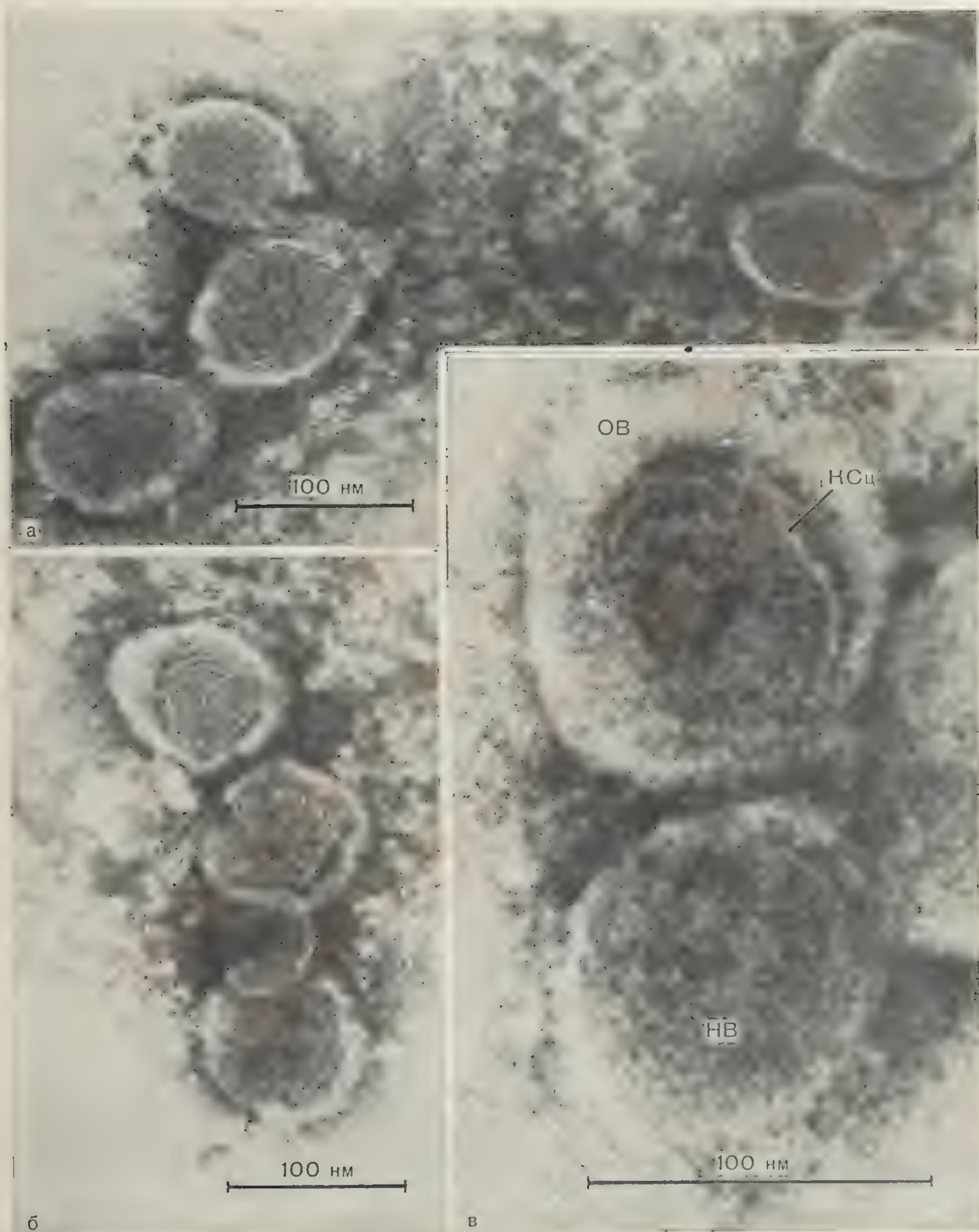
а, б — скопление онковирусов типа С и D.
Ув. 300 000; в — онковирус типа D. Ув. 600 000.
ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевины;
НВ — нуклеоид вируса. Стрелкой показано место
контакта КСц с НВ.



67. Структура онковирусов типа С, выделенных из культуры клеток СПЭВ (негативное контрастирование).

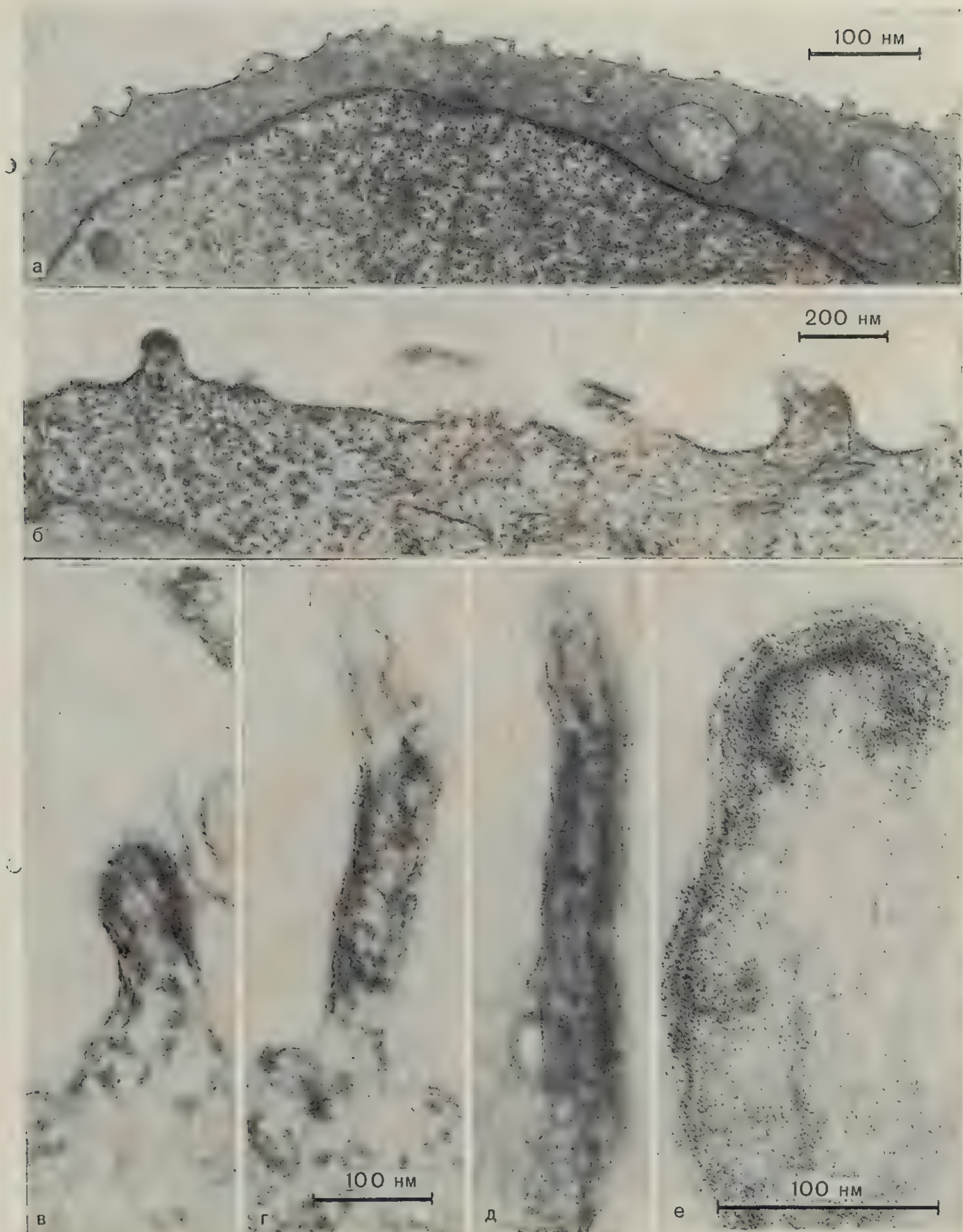
а, б — ув. 300 000; в — ув. 600 000.

ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевинки;
НВ — нуклеонд вируса.



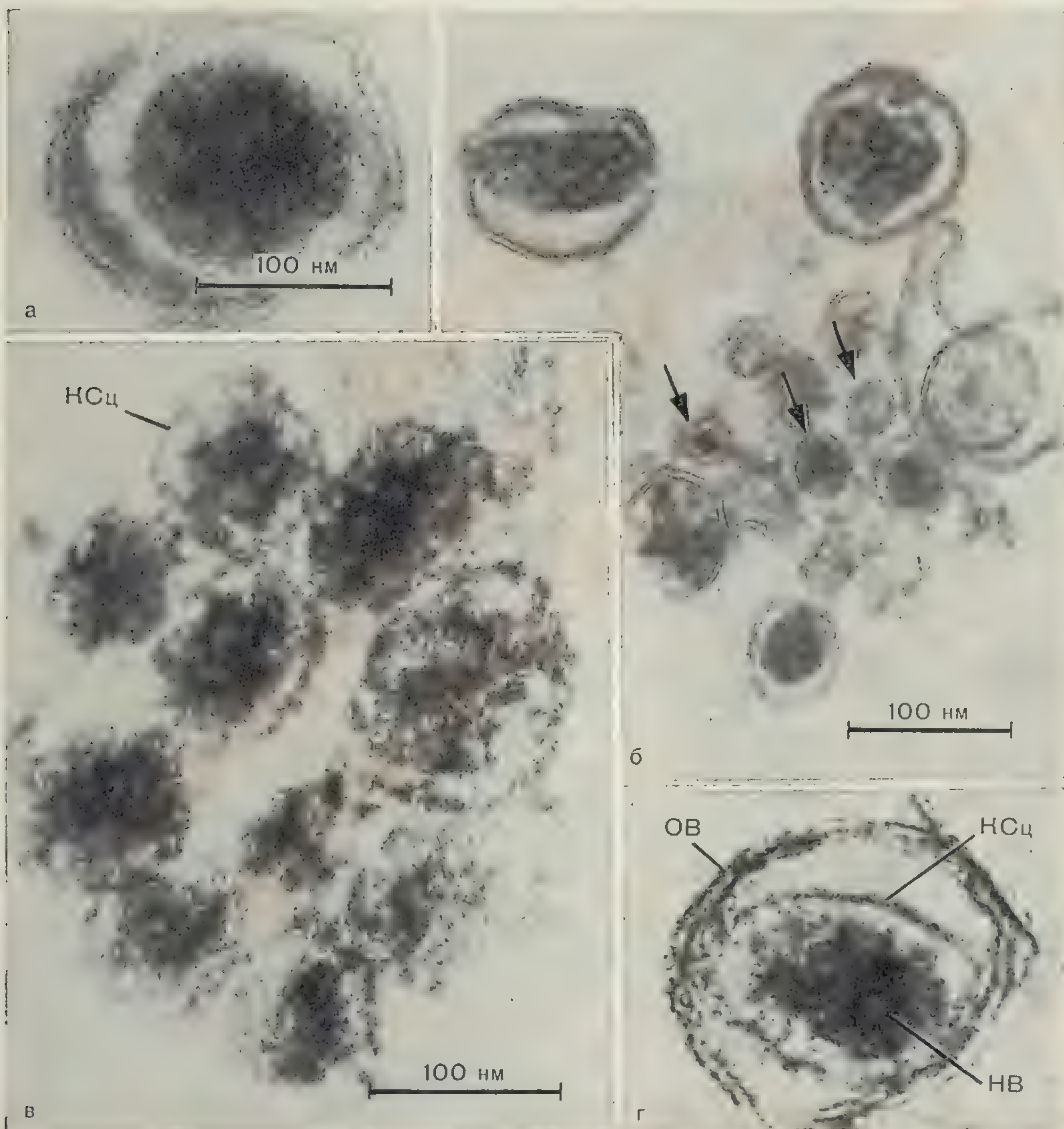
68. Почкование онковируса лейкоза крупного
рогатого скота — BLV.

а — обзор. Ув. 20 000; б — фрагмент а. Ув. 75 000;
в—д—почкование нитевидных форм вируса.
Ув. 200 000; е — почкование сферического вируса
типа А(С). Ув. 380 000.



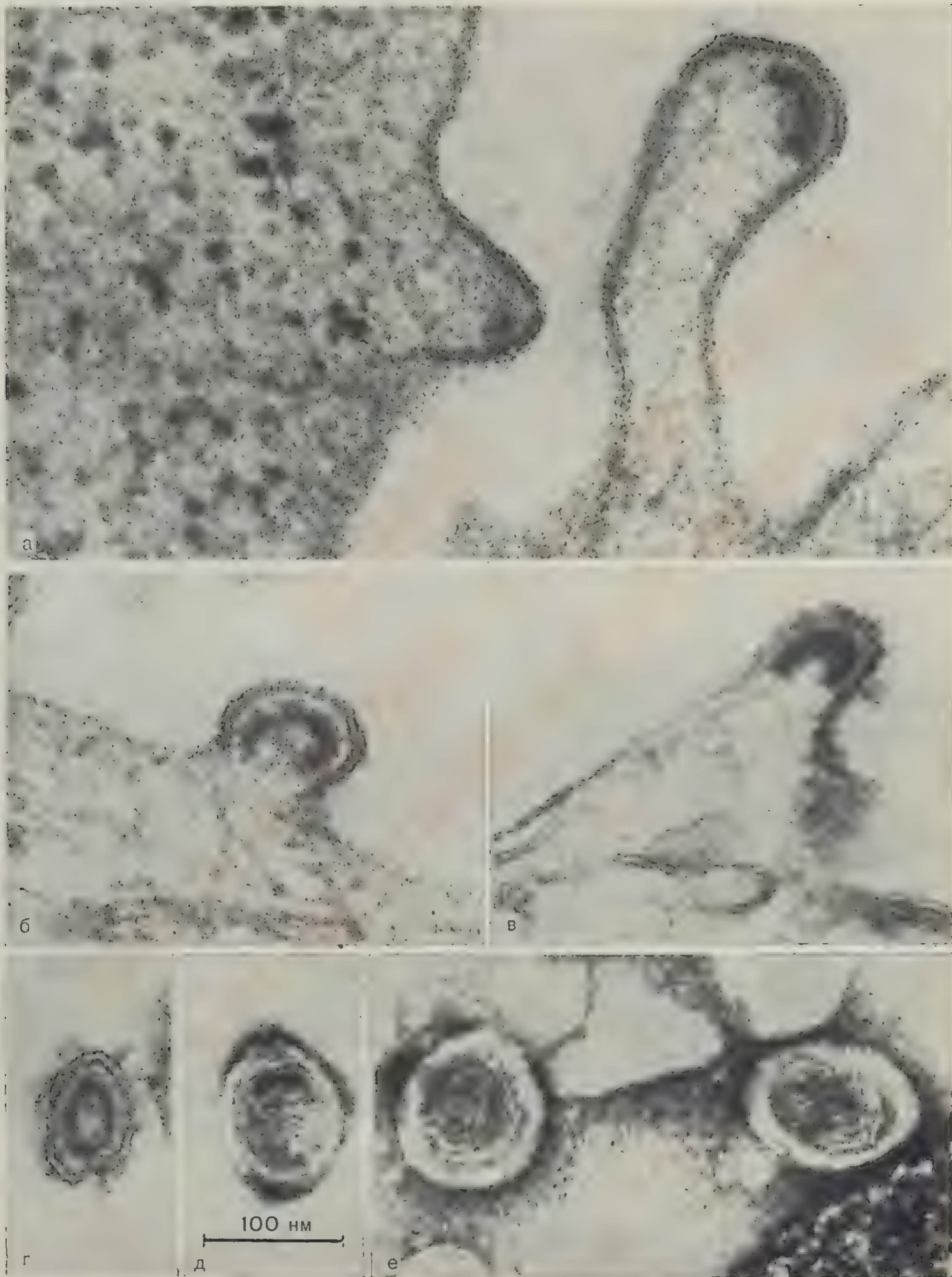
69. Морфология онковирусов лейкоза крупного рогатого скота. Ув. 300 000.

а — обычный внеклеточный онковирус типа С.
б — скопление полиморфных частиц, наименьшие из которых указаны стрелками. Ув. 250 000; в — скопление внеклеточных частиц, морфологически сходных с сердцевинами онковирусов типа С. Ув. 300 000; г — онковирус типа С, сердцевина которого окружена отчетливо выраженной капсулой (КСц). Ув. 300 000. ОВ — оболочка вируса; НВ — нуклеоид вируса.



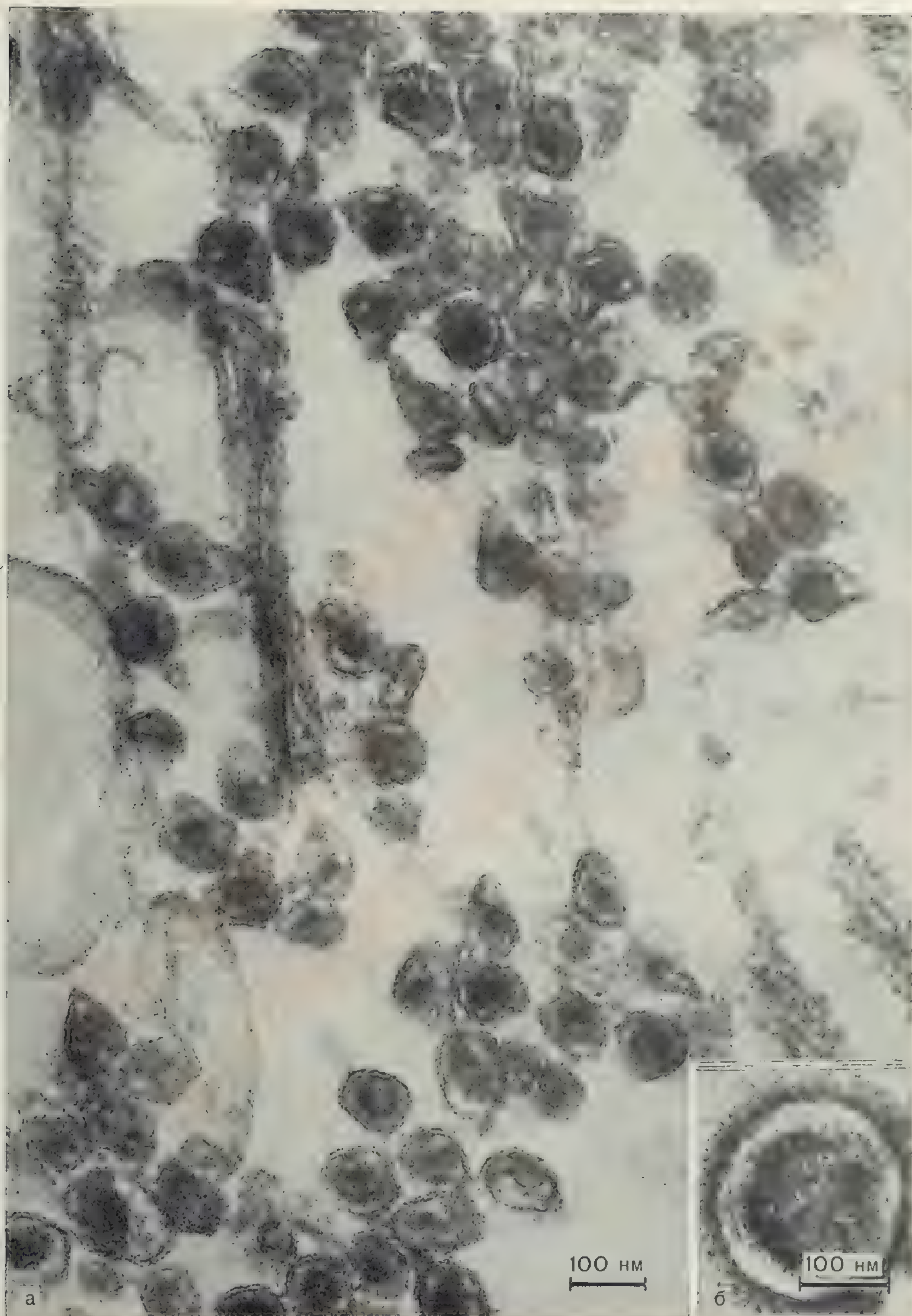
70. Структура и морфогенез онковируса саркомы шерстистых обезьян (перевиваемая линия клеток AP-1). Ув. 250 000.

а—в—различные этапы почкования онковируса;
г—внеклеточный онковирус типа А(С); д, е —
внеклеточные онковирусы типа С (негативное
контрастирование).



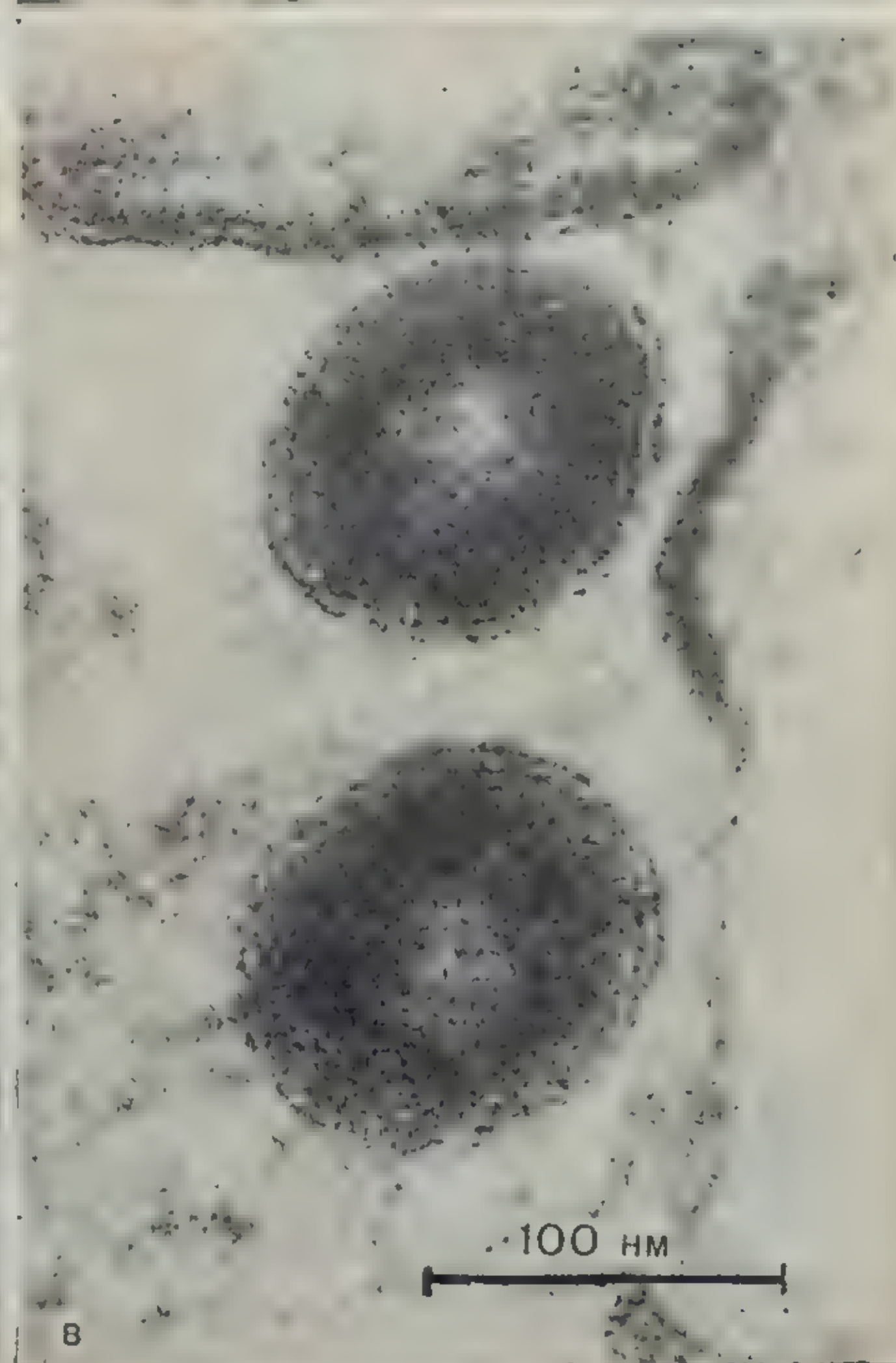
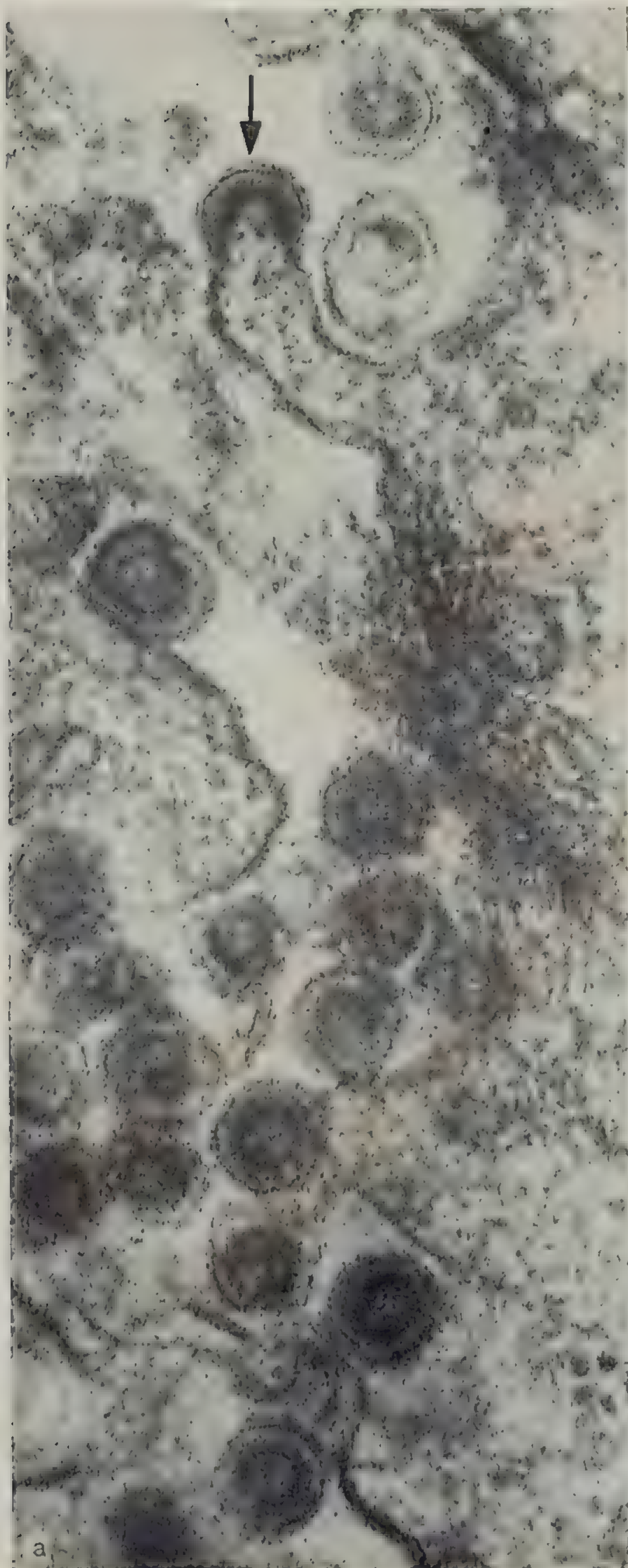
71. Морфология онковируса типа С саркомы
шерстистых обезьян (перевиваемая линия
клеток 71-Q-1).

а — ультратонкий срез, Ув. 120 000; б — негативное
контрастирование, Ув. 300 000.



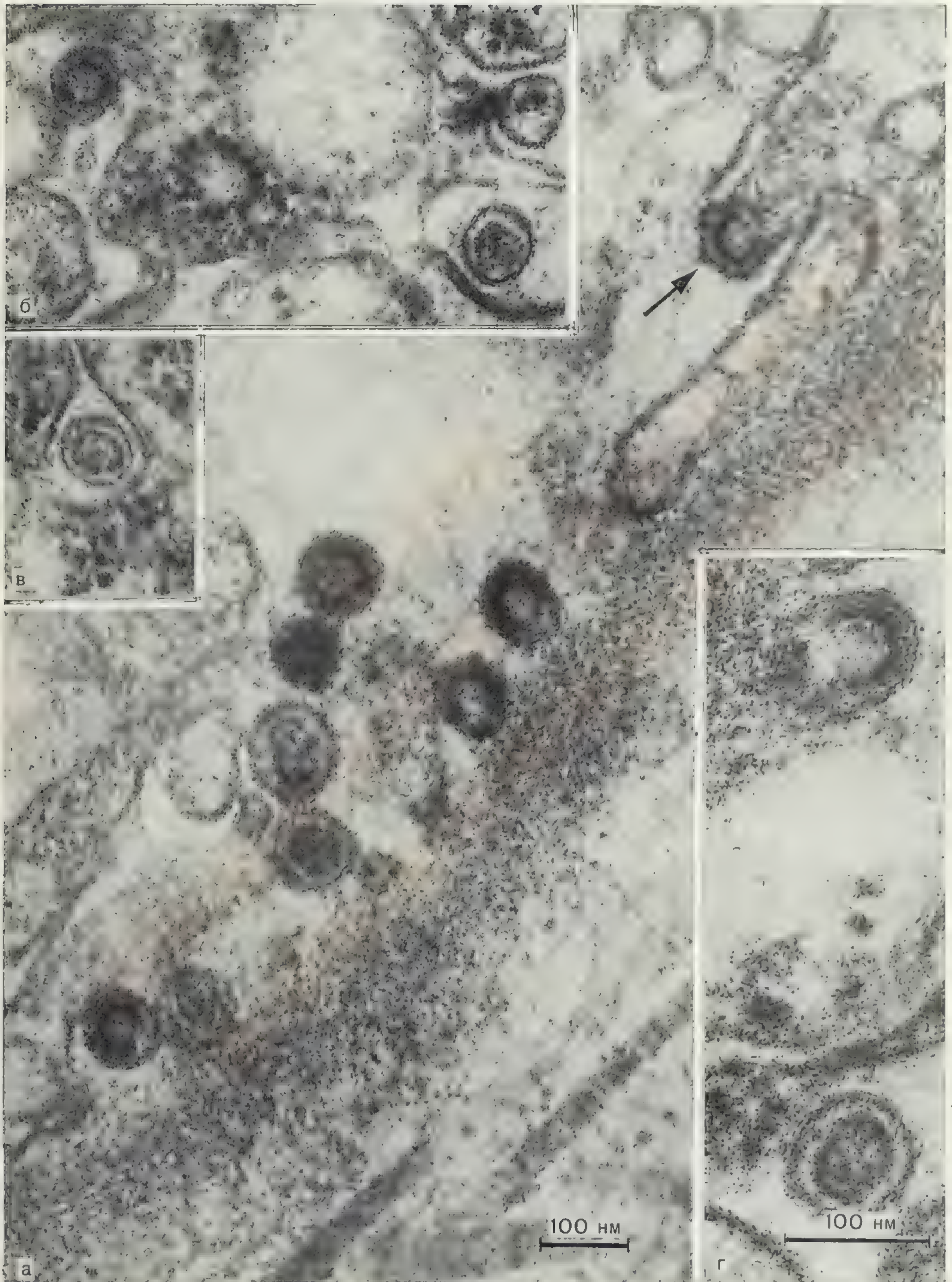
72. Морфология эндогенного онковируса типа С павианов гамадрилов BILN (фотография Г. Н. Чувирова). Ув. 150 000.

а — стрелкой показано почкование онковируса;
б, в — онковирусы в плаценте обезьяны *Macaca fascicularis* (препарат G. Schidlovsky). Ув. 300 000.

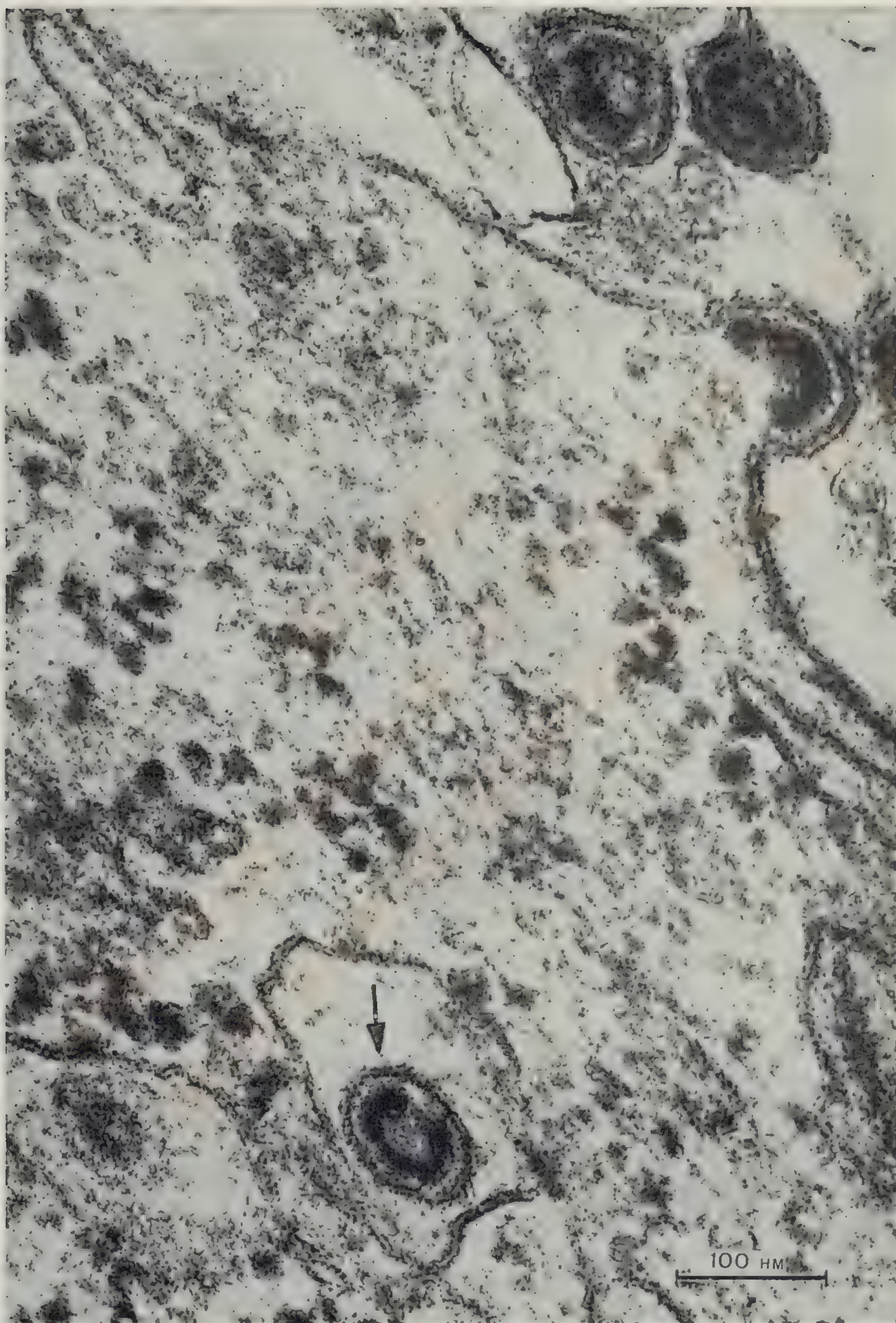


73. Структура онковирусов в клетках плаценты обезьяны *Раріо hamadryas* (фотографии М. Т. Иванова).

а—в—ув. 150 000; г—ув. 250 000. Стрелкой показано почкование онковируса.

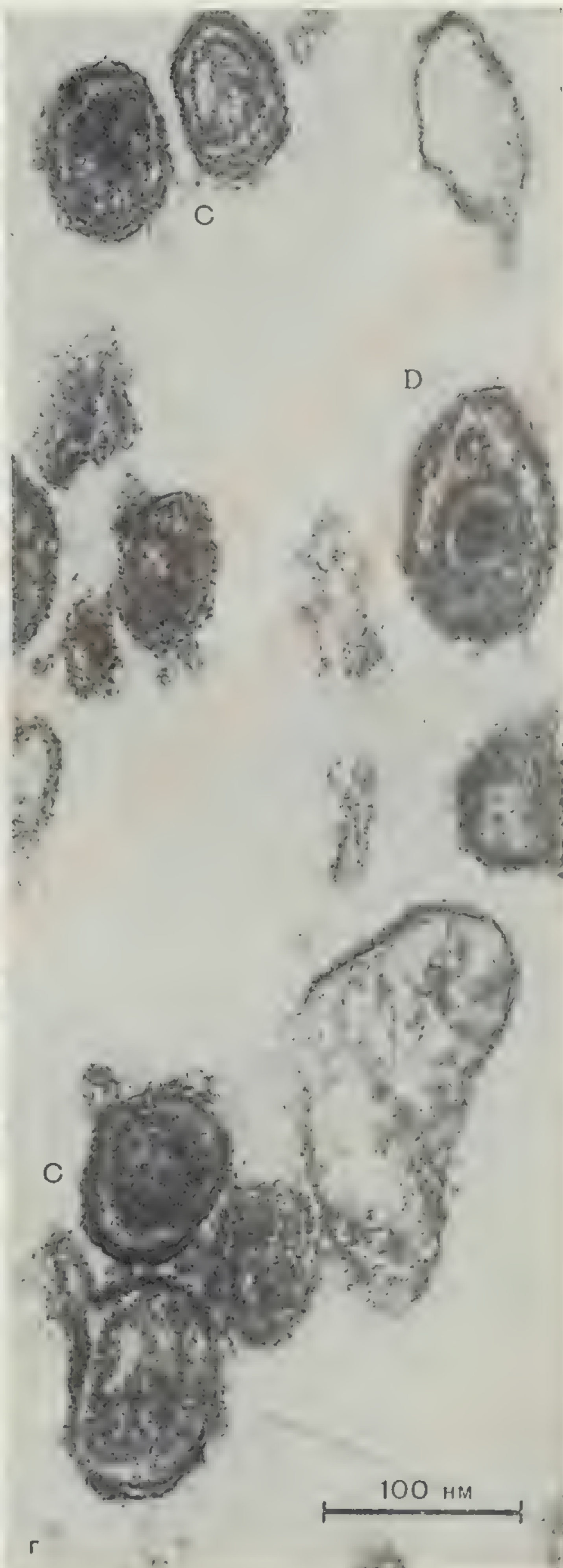
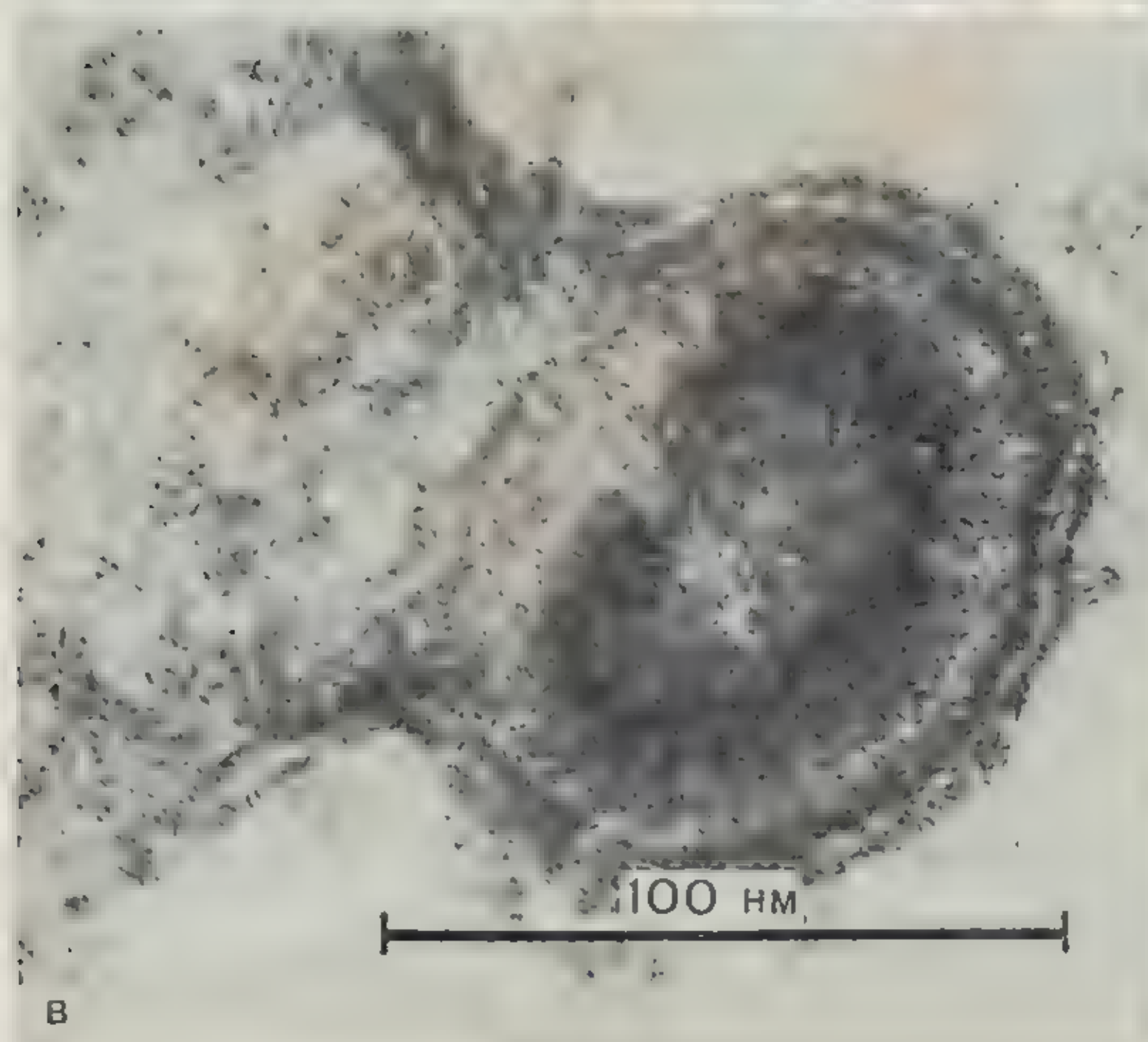
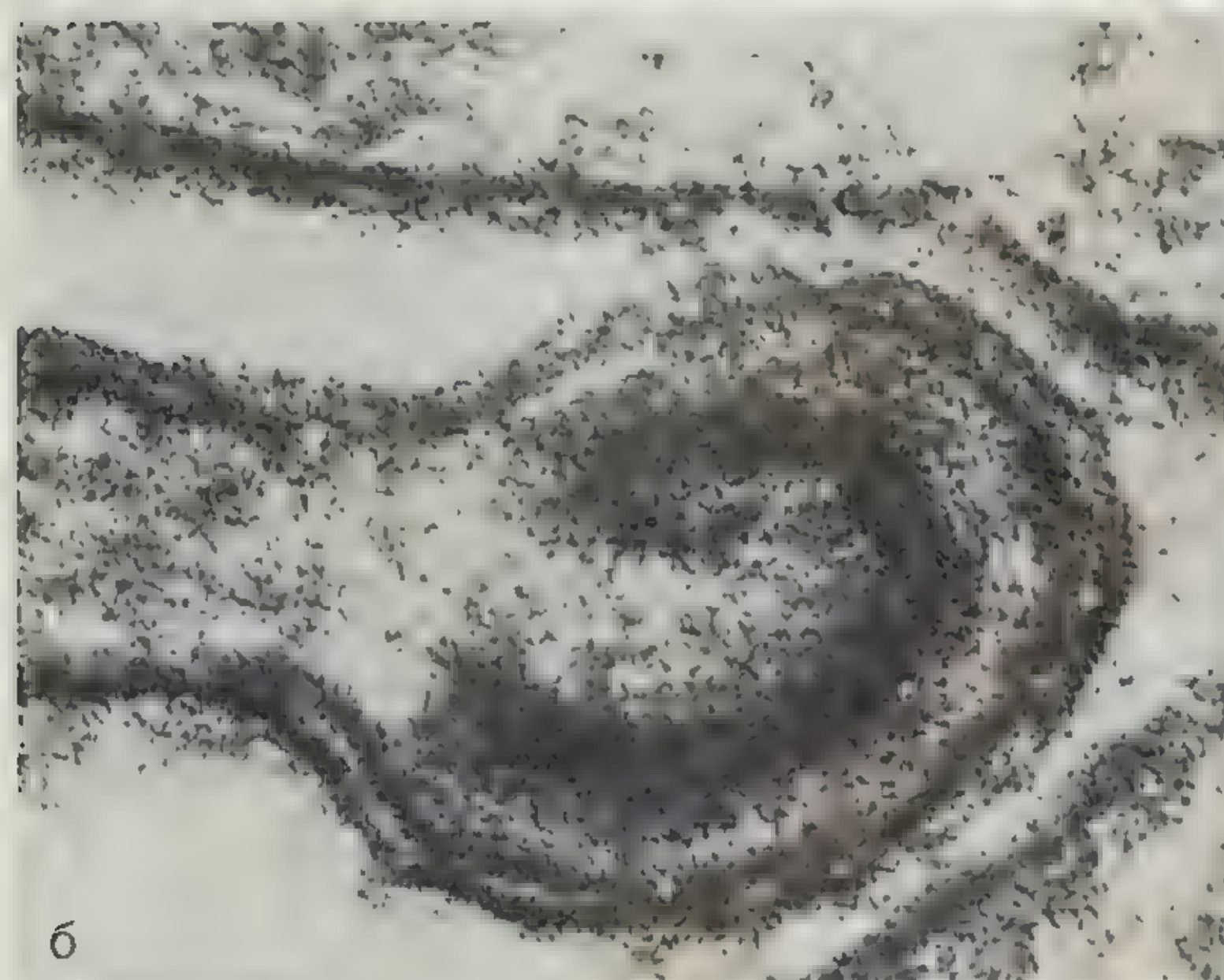
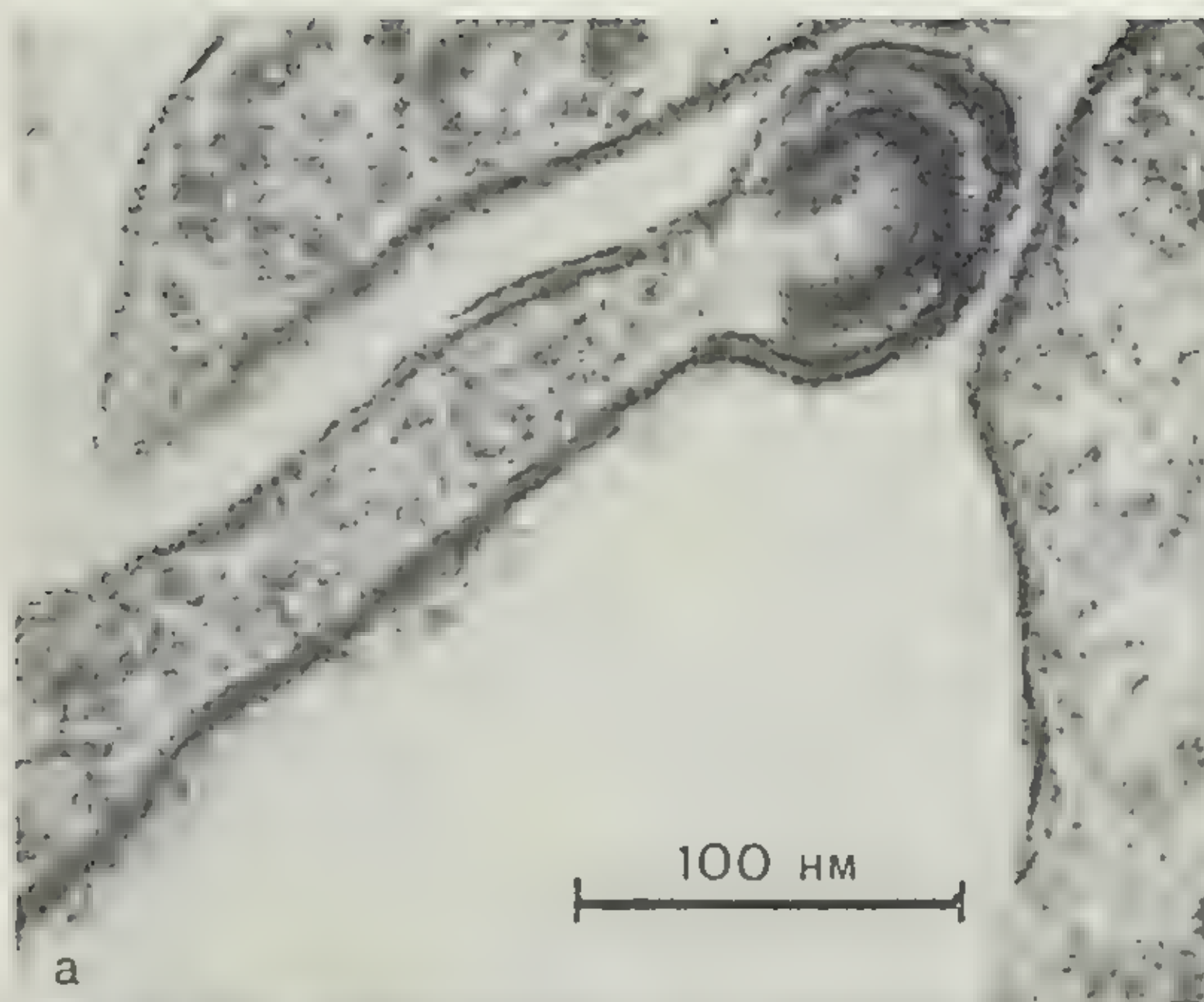


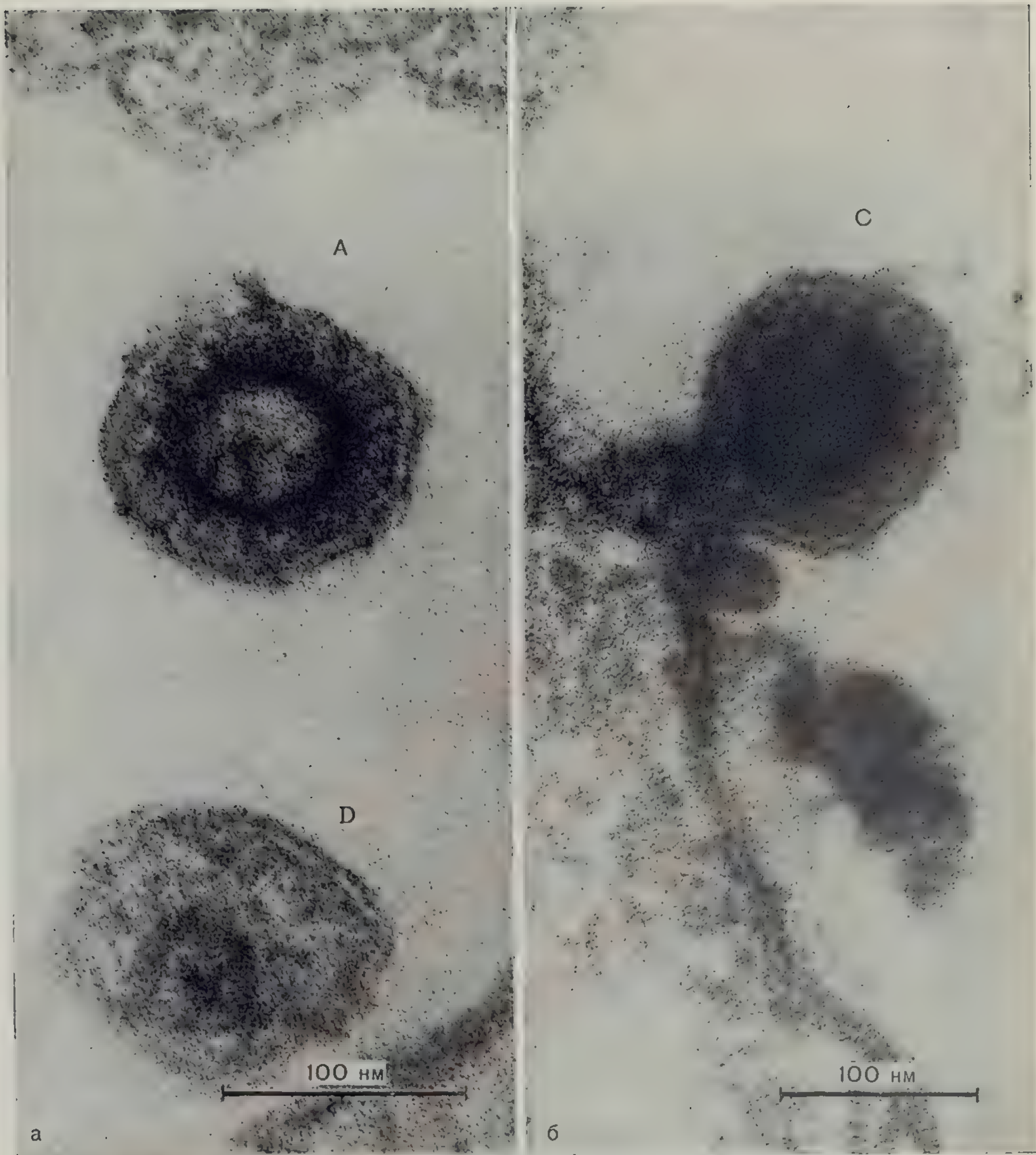
74. Морфология онковирусов перевиваемой линии
клеток человека ТК. Ув. 250 000.
Стрелкой показан цистернавирус типа А.



75. Морфогенез онковирусов клеток ТК.

а—в—почкование онковирусов типа А(С).
а—ув. 250 000, б—в—ув. 500 000; г—внеклеточные
онковирусы типа С и D. Ув. 250 000.





76. Структура онковирусов в системе ЛПВ
(фотографии В. Д. Лоттё).
а — онковирусы типа А и D. Ув. 400 000;
б — онковирис типа С. Ув. 330 000.

VII. ОНКОВИРУСЫ ТИПА D

Онковирусы типа D как отдельная группа онкогенных РНК-геномных вирусов и как отдельный морфологический тип ретровируса (тип D) впервые были классифицированы и названы советскими исследователями [Быковский А. Ф. и др., 1973—1974; Bykovsky A. F. et al., 1974]. Эта работа впервые была доложена на Первом советско-американском симпозиуме по онковирусологии (май 1974 г., СССР). В сентябре 1974 г. в США на симпозиуме, в работе которого приняло участие около 80 онковирусологов из различных стран мира, также было предложено выделить группу онкорнавирусов типа D; материалы симпозиума были вскоре опубликованы [Dalton et al., 1974; Dalton, Heine, Melnick, 1975].

Первоначально группа онковирусов типа D включала онкорнавирус рака молочной железы обезьян — вирус Мезон — Пфайзера (M — PMV) [Chopra, Mason, 1970] и вирусы, выделенные из перевиваемых клеток человека: рака гортани человека HEp-2—вирус Ильина—Быковского [Быковский А. Ф. и др., 1971; Ильин К. В., Быковский А. Ф., Спуре Ж. Ж., 1972; Ильин К. В., Быковский А. Ф., Жданов В. М., 1972]; клеток рака шейки матки HeLa [Быковский А. Ф. и др., 1973; Gelderblom et al., 1974]; клеток почек человека (RH, ПП-Ч), амниона человека (A0, A-1), клеток астроцитомы (ДАПТ), клеток FL и Detroit-6 [Быковский А. Ф. и др., 1973, 1974; Жданов В. М. и др., 1973; Miller et al., 1974].

Затем онковирусы типа D были выявлены в культуре лимфобластоидных клеток человека J-96 [Соловьев В. Д. и др., 1971, 1972, 1974], а также в популяции «лейкозоподобного вируса» — ЛПВ [Анджапаридзе О. Г. и др., 1975], в которой до этого были выявлены онковирусы типа C и внутрицистернальные вирусы типа A [Анджапаридзе О. Г. и др., 1971, 1972, 1974]. Онковирусы типа D были обнаружены в культуре клеток человека ТК [Альтштейн А. Д. и др., 1974; Мартыненко В. Б., 1975], в культурах клеток свиней

СПЭВ, ПП-3 [Альтштейн А. Д. и др., 1974; Мартыненко В. Б., 1975].

В последующие годы ретровирусы, морфологически сходные с вирусами типа D (рис. 77), были обнаружены у беличьих обезьян [Heberling et al., 1977], обезьян (лангуров) Старого Света [Benveniste, Todaro, 1977; Todaro et al., 1978], морских свинок [Rutman, Rhim, 1977; Vernon et al., 1977; Perk, Dahlberg, 1979], хомяков [Calafat, Hilkens, 1978] и, по-видимому, мышей *Mus cervicolor* [Callahan et al., 1976].

Более подробно история обнаружения и изучения онковирусов типа D изложена в книге В. М. Жданова, А. Ф. Быковского, К. В. Ильина «Онкогенные вирусы типа D» (1979) и в обзоре Fine и Schochetman (1978).

По-видимому, впервые вирусы, морфологически сходные с онковирусами типа D, были обнаружены в 1960 г. А. Ф. Быковским при электронно-микроскопическом исследовании перевиваемой линии клеток шейки матки человека HeLa. В гиалоплазме этих клеток были выявлены скопления сферических образований (рис. 78), по величине и субмикроскопической организации соответствовавшие внутрицитоплазматическим сердцевинам онкорнавируса типа A. Внеклеточно были обнаружены единичные вирионы, морфологически сходные с онкорнавирусами типа D.

В 1967—1968 гг. морфологически сходные вирусы были выявлены при электронно-микроскопическом исследовании ряда перевиваемых линий клеток человека, инокулированных материалами от людей, больных геморрагической лихорадкой и острым лейкозом [Канторович Р. А., Быковский А. Ф., Кириллова Ф. М., 1970]. Помимо скоплений внутриклеточных сердцевин типа A и внеклеточных вирионов типа A, было обнаружено формирование вируса на поверхности клетки [Авакян А. А., Быковский А. Ф., 1970]. Вирус удалось пассировать на первичных культурах клеток.

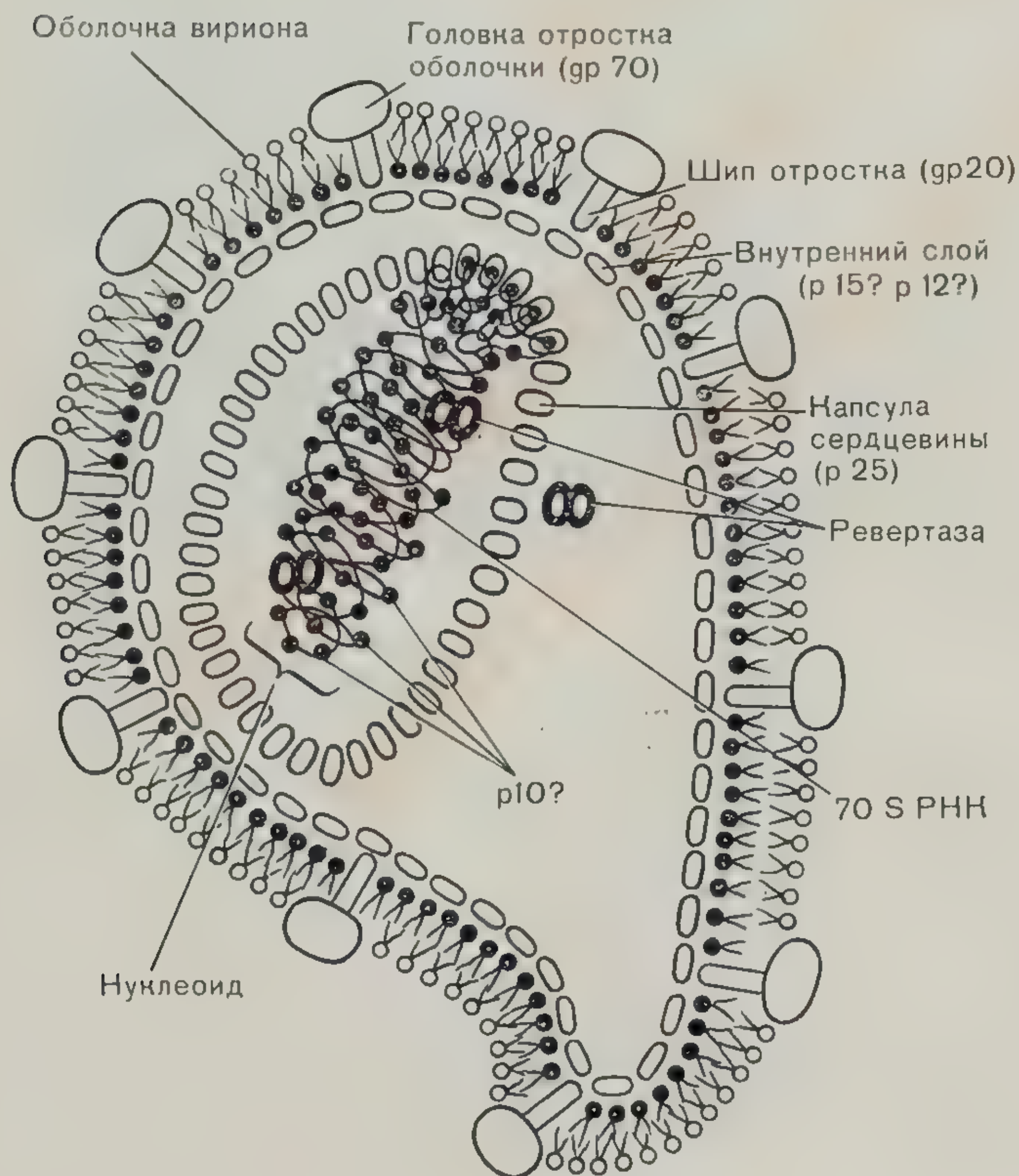
В 1973 г. А. Ф. Быковский провел специальное электронно-микроскопическое изучение ряда линий перевиваемых клеток человека, зафиксированных и заключенных в полиметакрилаты в 1959—1967 гг. Установлено, что вирусы, морфологически сходные с онкорнавирусами типа D, обнаруживаются в препаратах клеток начиная с 1959 г., а в препаратах клеток НЕр-2 и почек человека (РН) — с 1967 г.

В 1970 г. Chopra и Mason [Chopra, 1970; Chopra, Mason, 1970; Mason et al., 1972] обнаружили методом электронной микроскопии у восьмилетней макаки резуса в тонких срезах ткани трехмесячной спонтанной карциномы молочной железы большое число вирусных частиц двух типов. Одни представляли собой внутрицитоплазматические округлые структуры диаметром 60—90 нм. Их плотность на периферии была выше, чем в центре. Почкование частиц на клеточной поверхности происходило путем инкорпорации внутрицитоплазматических частиц через клеточную мембрану. Другой тип частиц был представлен внеклеточными вирионами овальной или сферической формы, диаметром 100—120 нм. Они имели наружную мембрану и центральный нуклеонид. На оболочке вирусных частиц не было выростов,

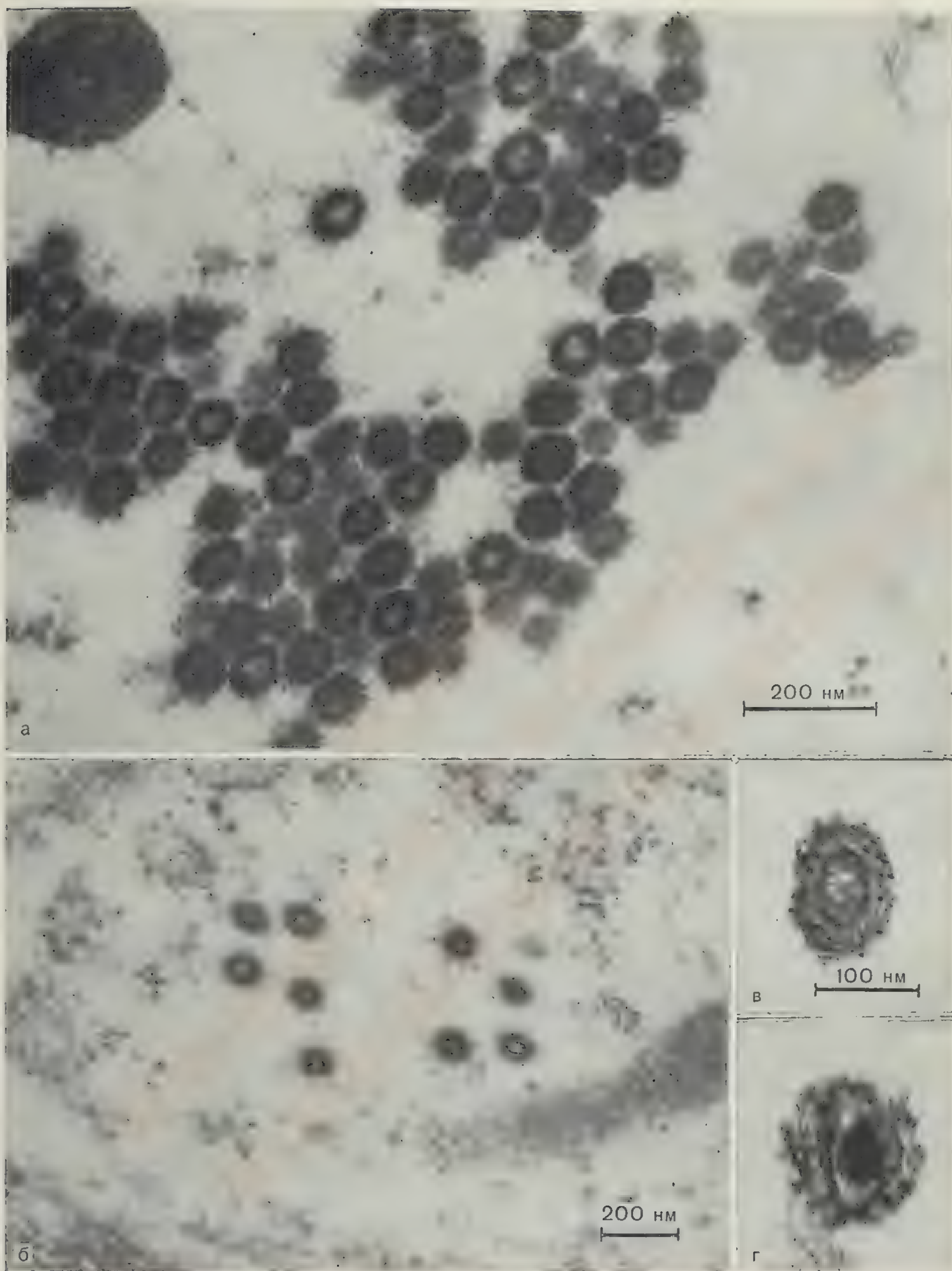
характерных для частиц типов В и С. Авторы пришли к выводу, что обнаружен РНК-содержащий онкогенный вирус [Chopra, Mason, 1970]. Так был выделен первый онкорнавирус приматов, морфология которого отличается от морфологии частиц типов В и С. Вирус был назван обезьяньим вирусом Мезон — Пфайзера (М-PMV).

Как было показано Kramarsky с соавт. (1971), по морфологии открытый вирус сходен с частицами типа С, но не идентичен им. Однако внутриклеточное развитие этих частиц было аналогично развитию частиц типа В.

М-PMV имеет характерные для РНК-содержащих опухолевых вирусов биофизические и биохимические свойства [Schlom, Spiegelman, 1971a, b; Nowinski et al., 1971; Manning et al., 1972; Schlom et al., 1973]. Вирусные частицы имеют плавающую плотность 1,16 г/мл в градиенте сахарозы [Manning et al., 1972]. Вирус содержит односпиральную 60—70S РНК [Manning et al., 1972; Schlom, Spiegelman, 1971a, b; Schochetman, Schlom, 1975], состоящую из двух субъединиц с молекулярной массой $2 \cdot 10^6$ — $3 \cdot 10^6$ [Schochetman, Schlom, 1975; Colcher et al., 1976]. Обнаружена также 4S РНК [Nowinski et al., 1971]. РНК содержит полидепидовые



77. Супрамолекулярная организация онковируса типа D (схема).



78. Морфология типа D-подобных вирусов, обнаруженных в 1960 г. в клетках HeLa (а) и в 1967—1968 гг. — в перевиваемых клетках почки эмбриона человека — ПЭЧ (б—в).

а — скопление сердцевин в цитоплазме клеток HeLa. Ув. 120 000; б — скопление сердцевин в цитоплазме клеток ПЭЧ. Ув. 70 000; в — внеклеточный онковиром типа A(D) в культуре клеток ПЭЧ. Ув. 180 000; г — внеклеточный онковиром типа D в культуре клеток ПЭЧ. Ув. 180 000.

последовательности приблизительно 200 нуклеотидов [Gillespie et al., 1972]. М-PMV содержит РНК-зависимую ДНК-полимеразу (обратную транскриптазу) с молекулярной массой 100 000 [Spiegelman et al., 1970; Schlom, Spiegelman, 1971a; Abrell, Gallo, 1973; Yaniv et al., 1974]. Были выделены 6 белков (p) и гликопептидов (gp) со следующими молекулярными массами: 10 000 (p10), 12 000 (p12), 14 000 (p14), 20 000 (gp20), 27 000 (p27) и 68 000 (gp68) [Schochetman, Schlom, 1975; Schochetman et al., 1975]. В оболочке вирионов М-PMV выявлены общие антигенные детерминанты с эндогенными онковирусами типа С кошек — RD-114 и павиана — BEV [Альтштейн А. Д. и др., 1977; Stephenson et al., 1976].

Выделение вируса из клеток человека послужило основанием для изучения его ассоциации с клетками опухолей человека. Работы В. М. Жданова и др. (1974—1979) показали, что нуклеотидные последовательности генома вируса имеются в клетках карцином молочных желез человека. К. В. Ильиным (1975—1978) обнаружен gs-антиген (p27) вируса в клетках фиброаденом молочных желез человека. Эти данные позволили сделать вывод об ассоциации выделенного вируса с некоторыми формами опухолей человека.

Эндогенный ретровирус белчьей обезьяны (SMRV) был выделен из легочной культуры обезьян *Saimiri sciureus* при кокультивировании с клетками собаки [Heberling et al., 1977].

Эндогенный ретровирус PO-1-Lu выделен от обезьяны *Presbytis obscuris* [Todarо et al., 1977]. 70S РНК этого вируса на 30% сходна с РНК вируса М-PMV. Гомологии между РНК М-PMV и вирусов SSV, MMTV, MuLV, AMV и SMRV не было обнаружено.

Внеклеточные вирионы типа D отличаются значительным полиморфизмом величины, формы и внутренней организации (рис. 79—87). В среднем диаметр вируса равен 90—130 нм, однако величина отдельных аномальных вирионов достигает 250—300 нм (см. гл. IX).

Величина и форма вирусных сердцевин также значительно варьируют. В ультратонких срезах они имеют эллипсоидную или сферическую форму и локализуются внутри вириона, как правило, эксцентрично. Средние размеры эллипсоидных сердцевин составляют $50 \times 70 \times 140$ нм, сферических — 50×70 нм. Вирусные сердцевины покрыты одноконтурной осmioфильной капсулой неравномерной толщины (от 4 до 7 нм). В толще нуклеоида в ультратонких срезах выявляются электронно-оптически плотные тяжки толщиной 2—5 нм, контрастность которых возрастает после обработки срезов 1% раствором ацетата уранила, что свидетельствует об их рибо-

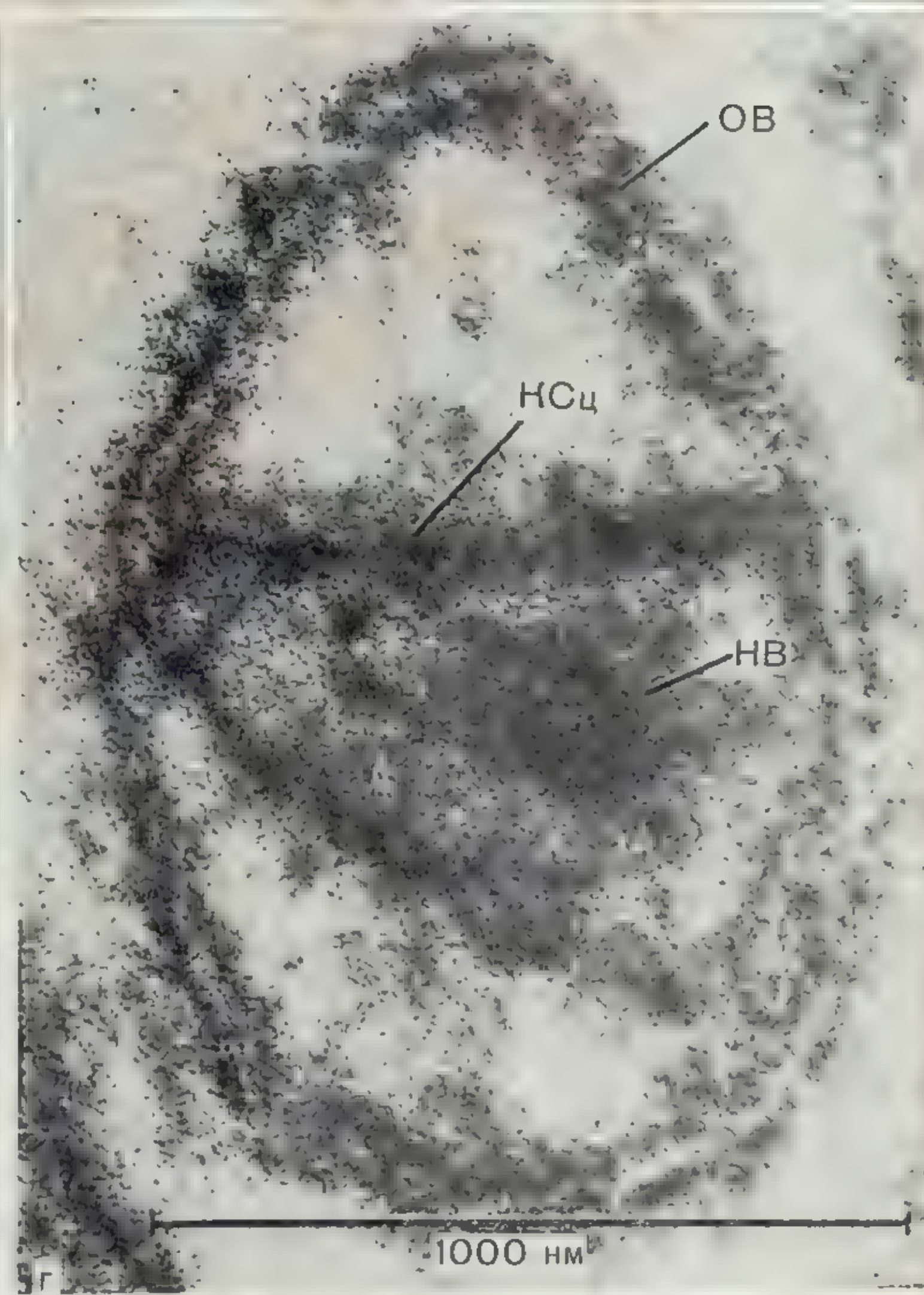
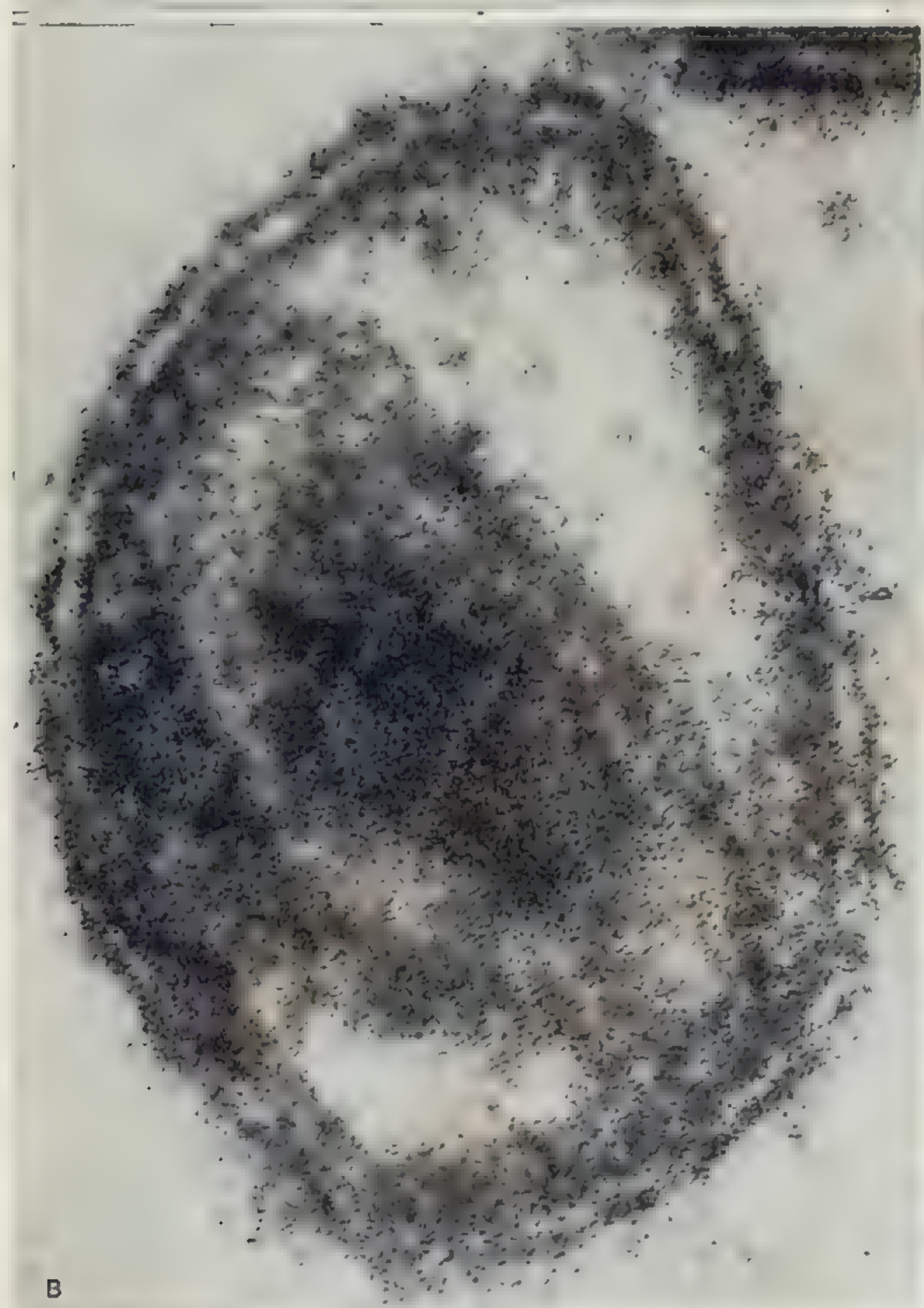
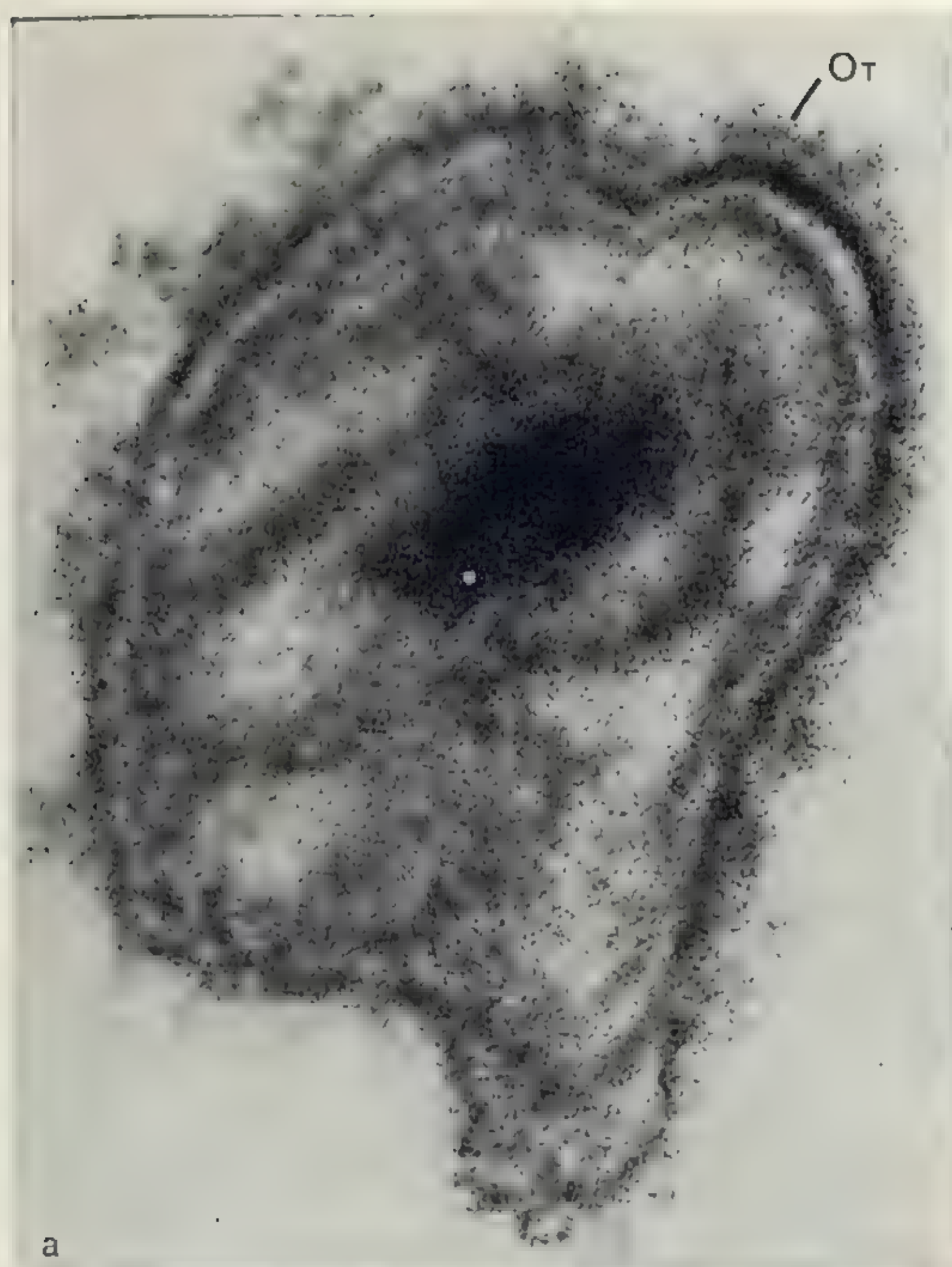
нуклеопротендной природе. Тяжки толщиной 0,6—2 нм выявляются в структуре вирусных нуклеоидов с помощью негативного контрастирования.

Вирионы типа D покрыты двухконтурной оболочкой толщиной 7—8 нм. На поверхности вирионов обычно не удается выявить отростков ни с помощью метода ультратонких срезов, ни посредством негативного контрастирования. Исключение составляют единичные вирионы, на поверхности которых на отдельных участках локализуется зона, по-видимому, небольших отростков длиной 4—5 нм (см. рис. 79, 78).

Внеклеточные вирионы М-PMV типа D в ультратонких срезах имеют диаметр около 130 нм, при негативном контрастировании 2% ФВК — 150 нм, а в препаратах, негативно окрашенных ацетатом уранила и высушенных методом критической точки, 101 нм [Gonda et al., 1978]. По данным этих же авторов, ретровирус белчьих обезьян (SMRV) при подобной обработке имел размеры 140, 150 и 102 нм соответственно. Наименьшие размеры характерны для ретровирусов типа D хомяков — 75—80 нм [Calafat, Hilkens, 1978].

Сердцевинки онковирусов типа A(D) формируются в любом участке интерфазной или делящейся клетки. В последнем случае нуклеонды могут локализоваться по периферии или даже в толще хромосомы клетки. Наиболее часто скопления вирусных сердцевин, достигающие нескольких десятков частиц в плоскости одного ультратонкого среза, располагаются вблизи комплекса Гольджи, цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулаума. Иногда в зоне формирования вирусных сердцевин в клетках HEp-2 выявляются своеобразные трубчатые структуры диаметром 15—20 нм. Число сердцевин типа A значительно возрастает (до 10 раз) при пассировании онкорнавируса на культуре клеток почек кролика [Ильин К. В., Быковский А. Ф., Спуре Ж. Ж., 1972], а также в процессе энуклеации клеток HeLa [Клицунова Н. В. и др., 1977].

Сердцевинки вируса формируются в гиалоплазме последовательно, образуя сферическую структуру диаметром 70—80 нм. В зоне их образования выявляются липейные полирибосомы и скопления осmioфильных тяжей толщиной 2—4 нм (рис. 88). Формирование онковирусов типа A(D) происходит либо на поверхности клеток, либо во внутриклеточных вакуолях; при этом фрагменты плазмалеммы или мембраны вакуоли включаются в состав оболочки вируса типа A (рис. 89, 90). Внеклеточные вирионы типа A(D) имеют овальную форму, их средний диаметр равен 100—140 нм (см. рис. 90, 91). Вирионы покрыты гладкой двухконтурной оболочкой толщиной 7—8 нм, ко-

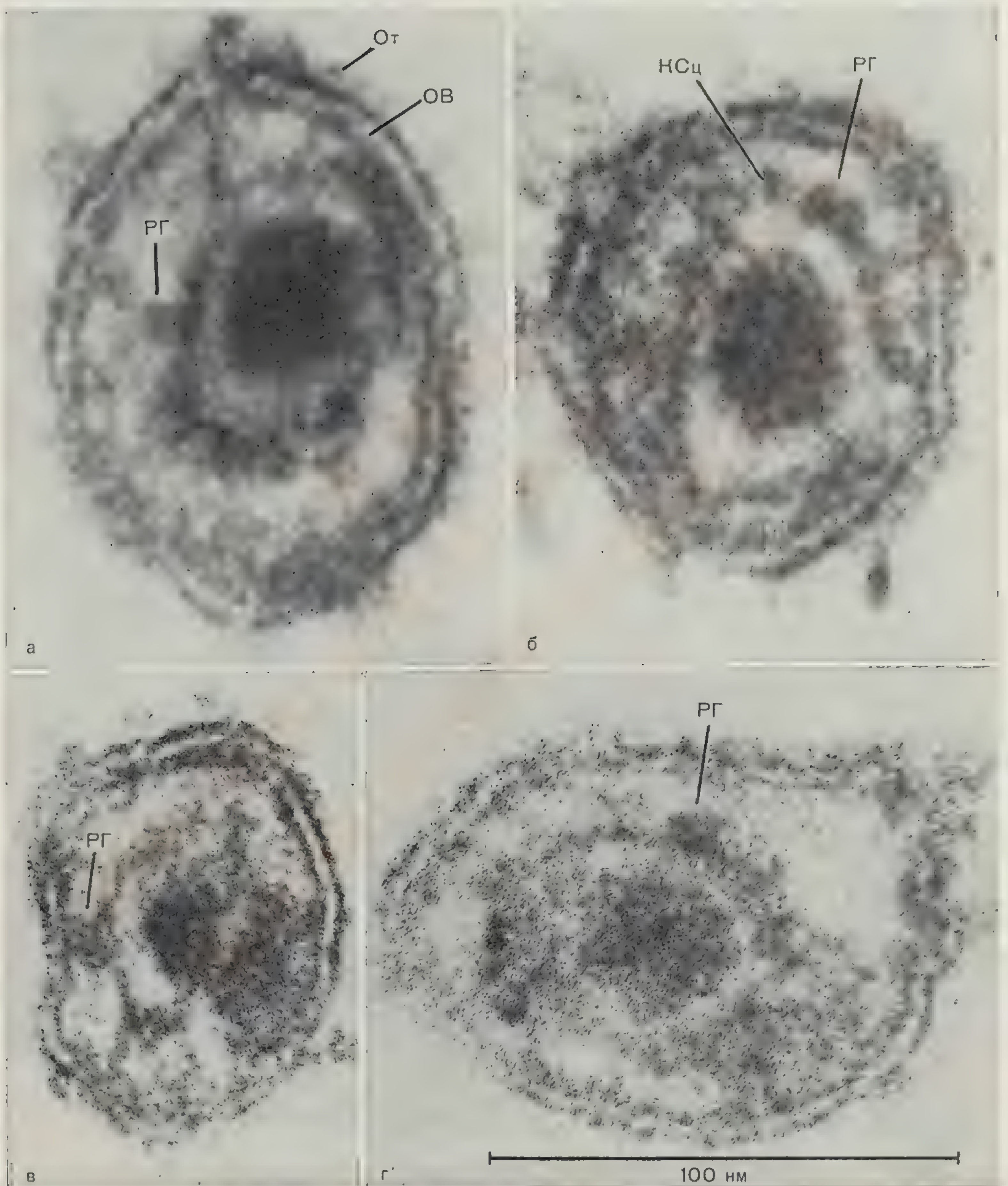


79. Внеклеточные онковирусы (а — г) типа D перевиваемых клеток рака гортани человека НЕр-2. Ув. 760 000. Сердцевины онковирусов имеют эллипсовидную форму.

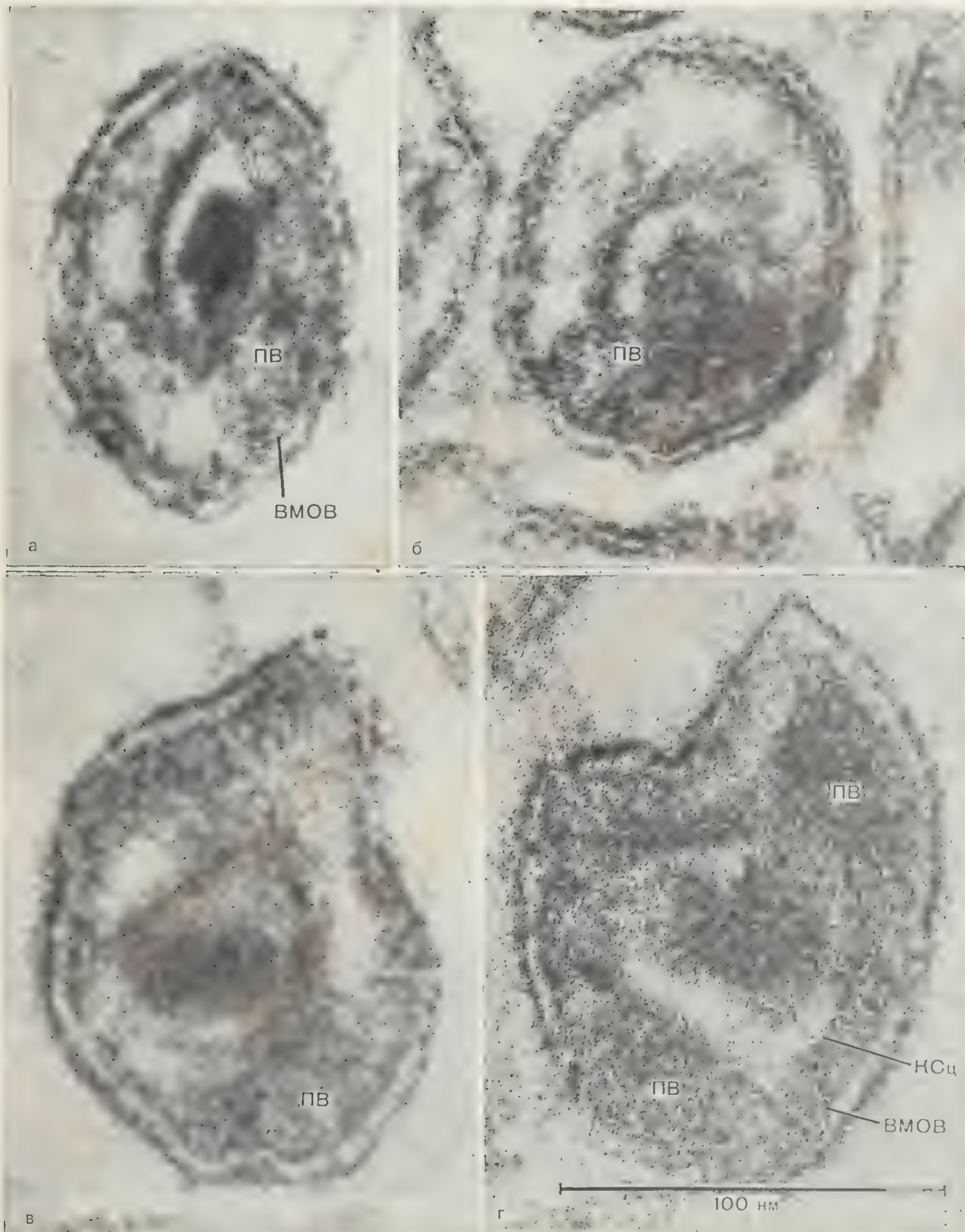
От — отростки оболочки вируса; ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевины; НВ — нуклеонд вируса.

80. Локализация рибосомоподобных гранул (РГ) внутри внеклеточных (а—г) онковирусов типа D. Ув. 760 000.

КСц — капсула сердцевинки вируса; ОВ — оболочка вируса; От — отростки оболочки вируса.

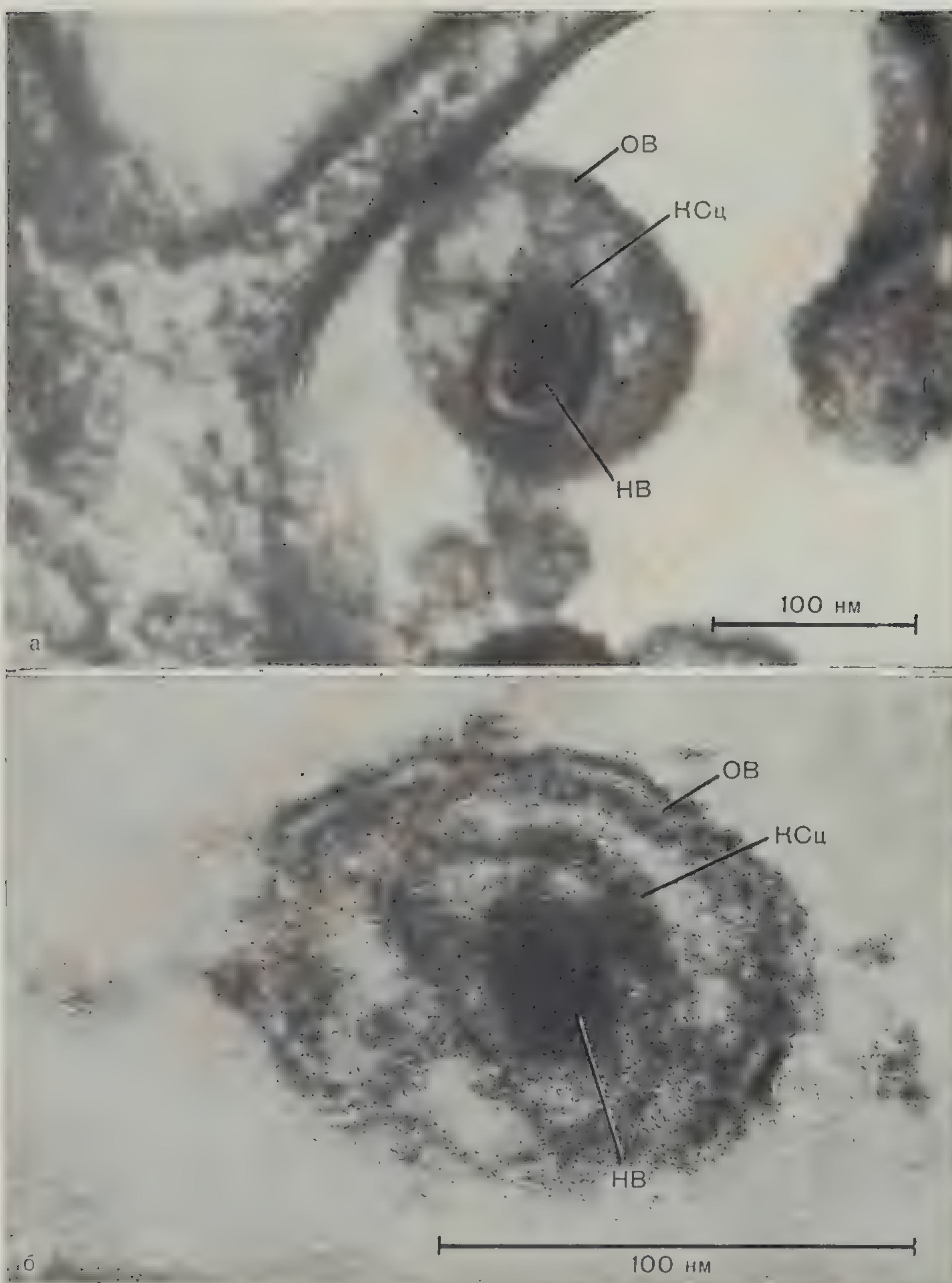


81. Онковирусы (а—г) типа D, содержащие электронно-оптически плотное вещество (ПВ) между внутренней мембраной оболочки вируса (ВМОВ) и капсулой сердцевинки (КСЦ). Ув. 760 000.



82. Структура вирионов типа D эндогенного онковируса лангура PO-1-LU.

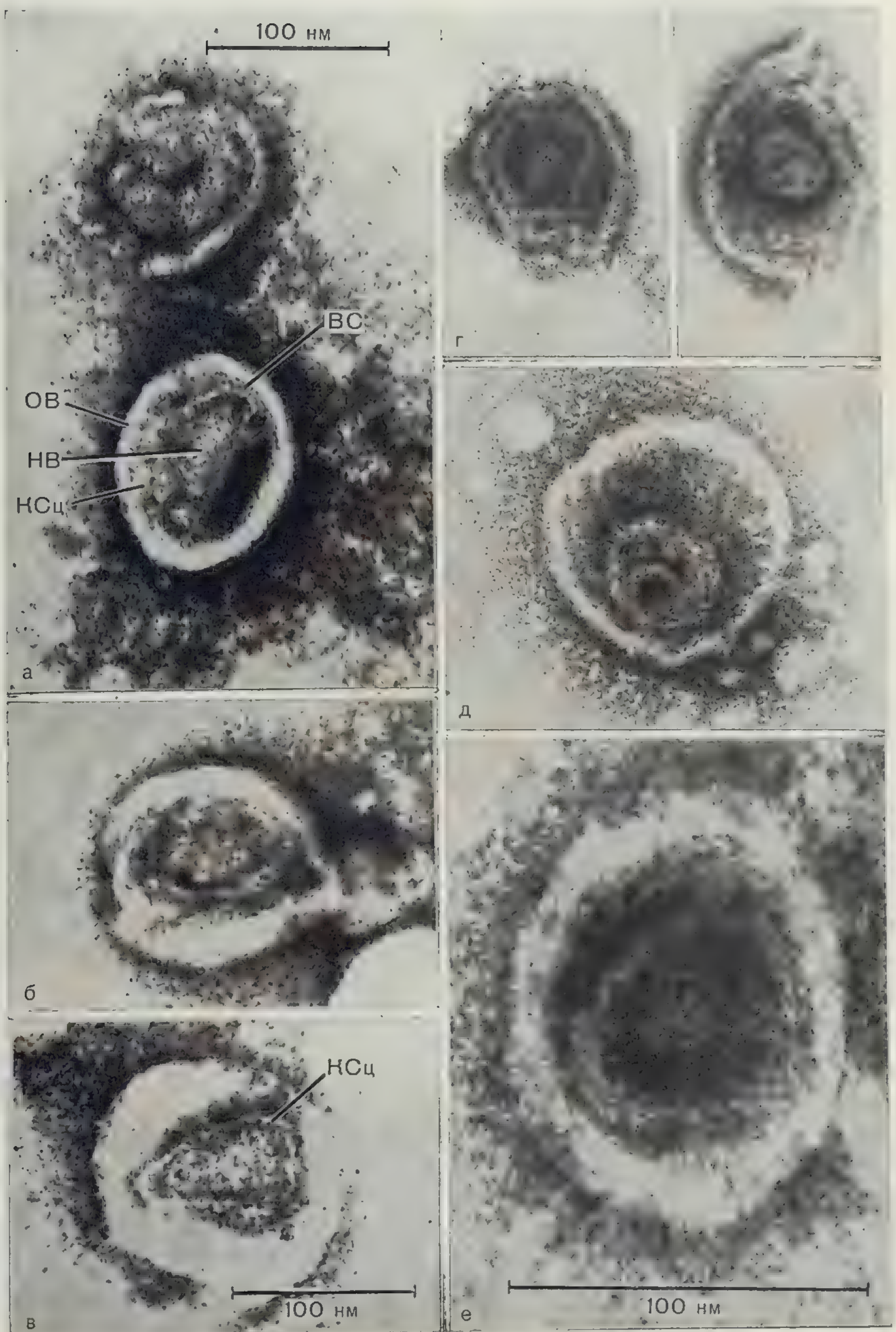
ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевин; НВ — нуклеонд вируса. а — ув. 300 000; б — ув. 760 000.



83. Структура онковируса типа D клеток ИЕр-2
(негативное контрастирование).

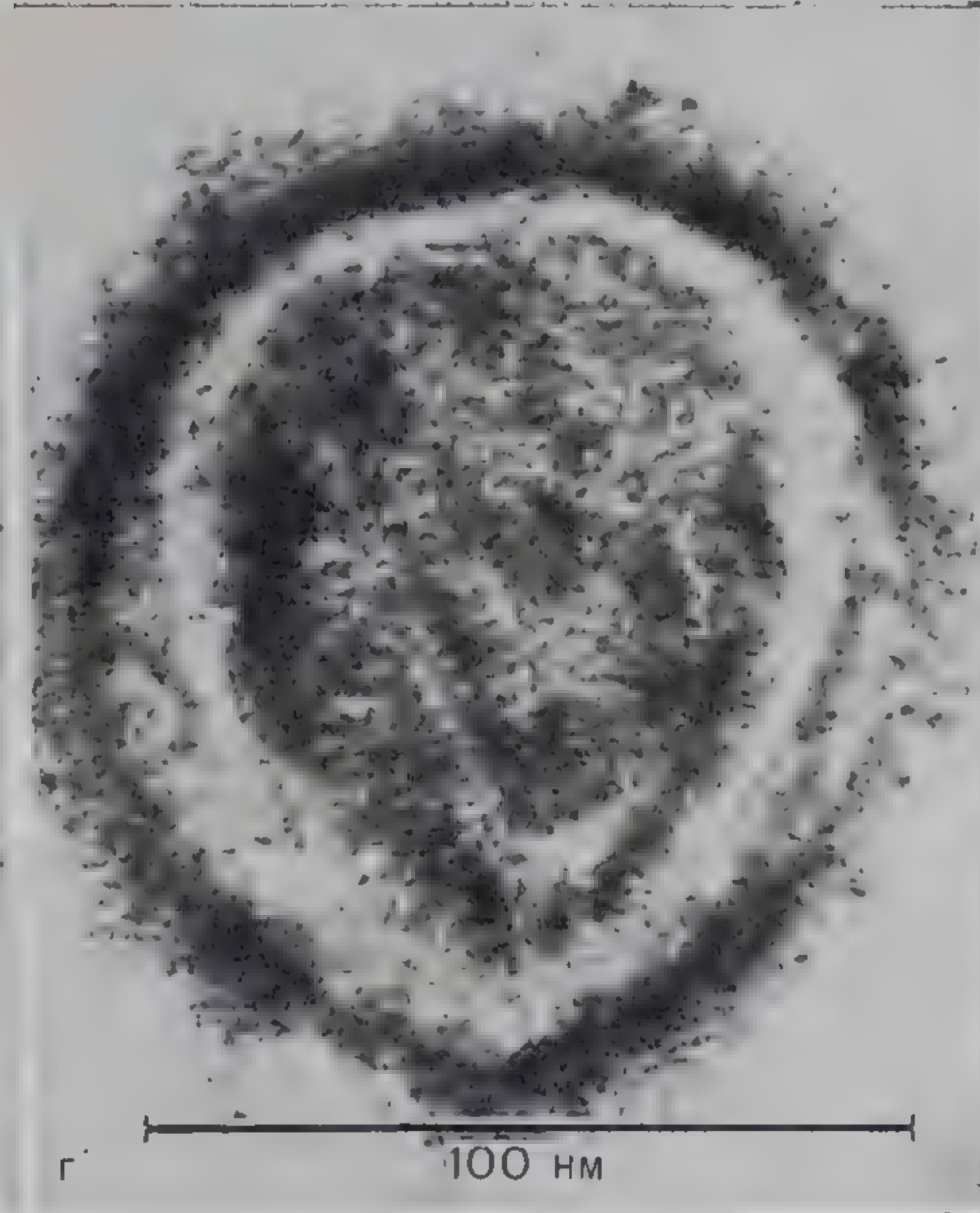
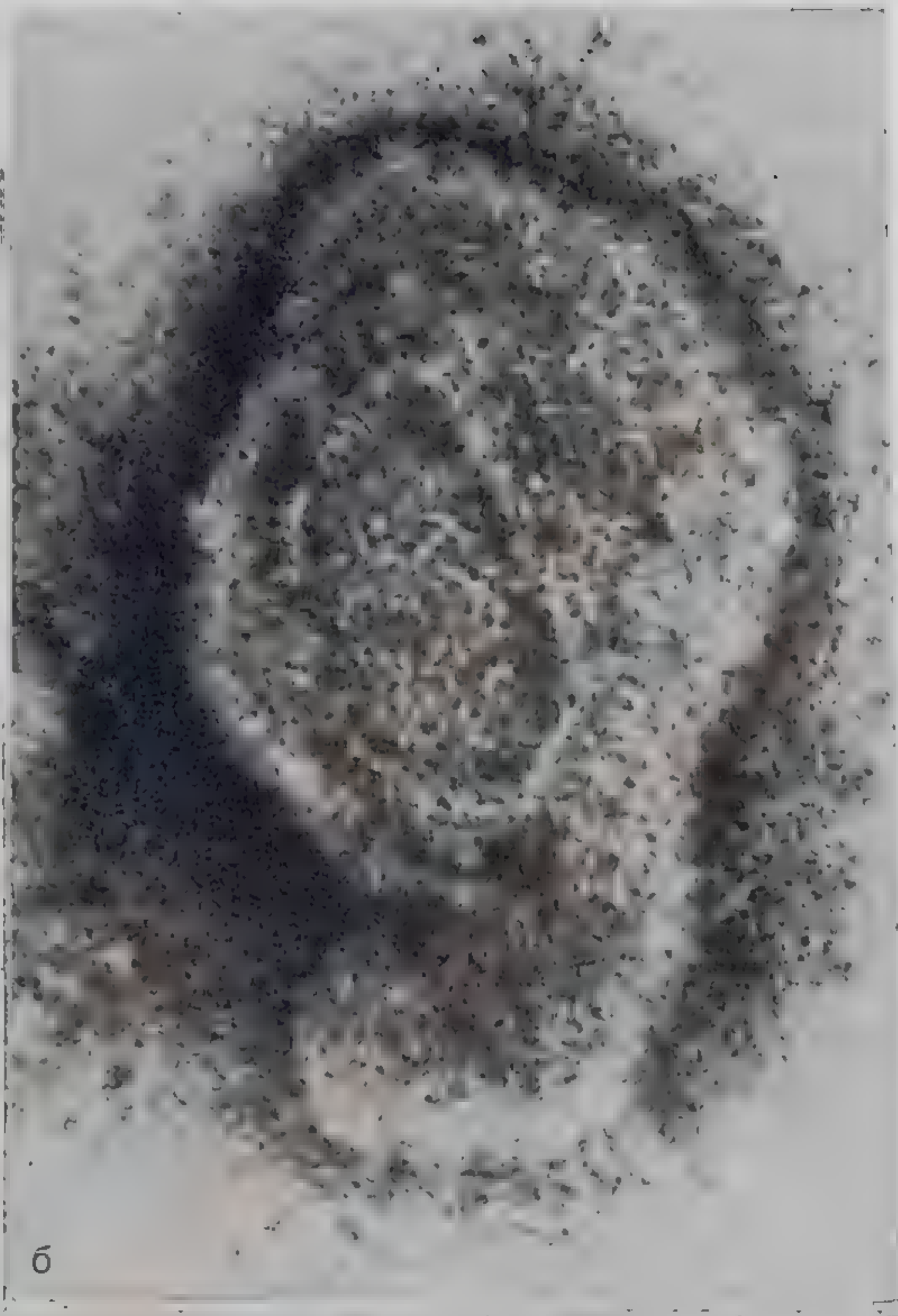
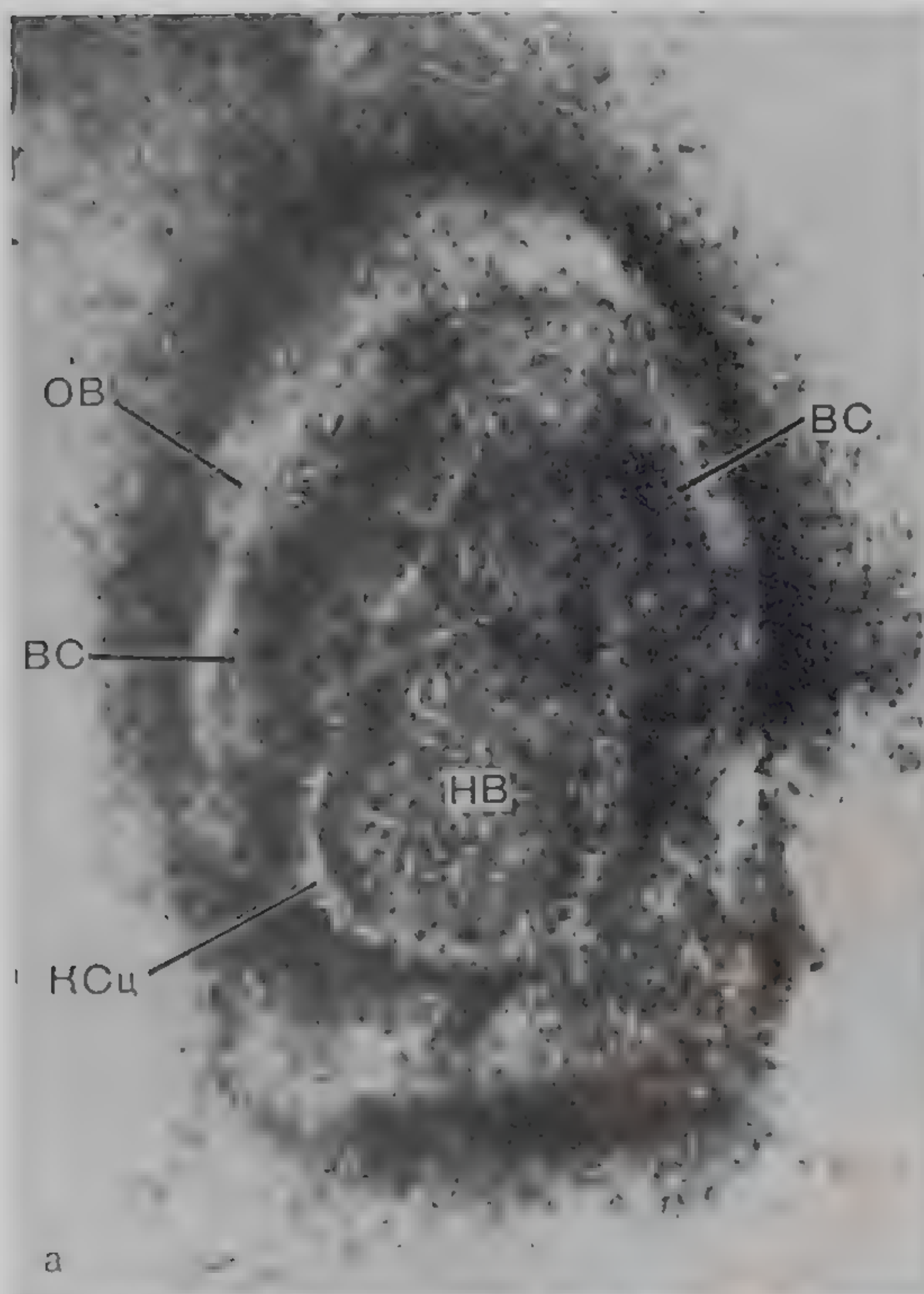
а—д—ув. 300 000; е — ув. 600 000.

ОВ — оболочка вируса; ВС — внутренний слой;
КСц — капсула сердцевины; НВ — нуклеонд.



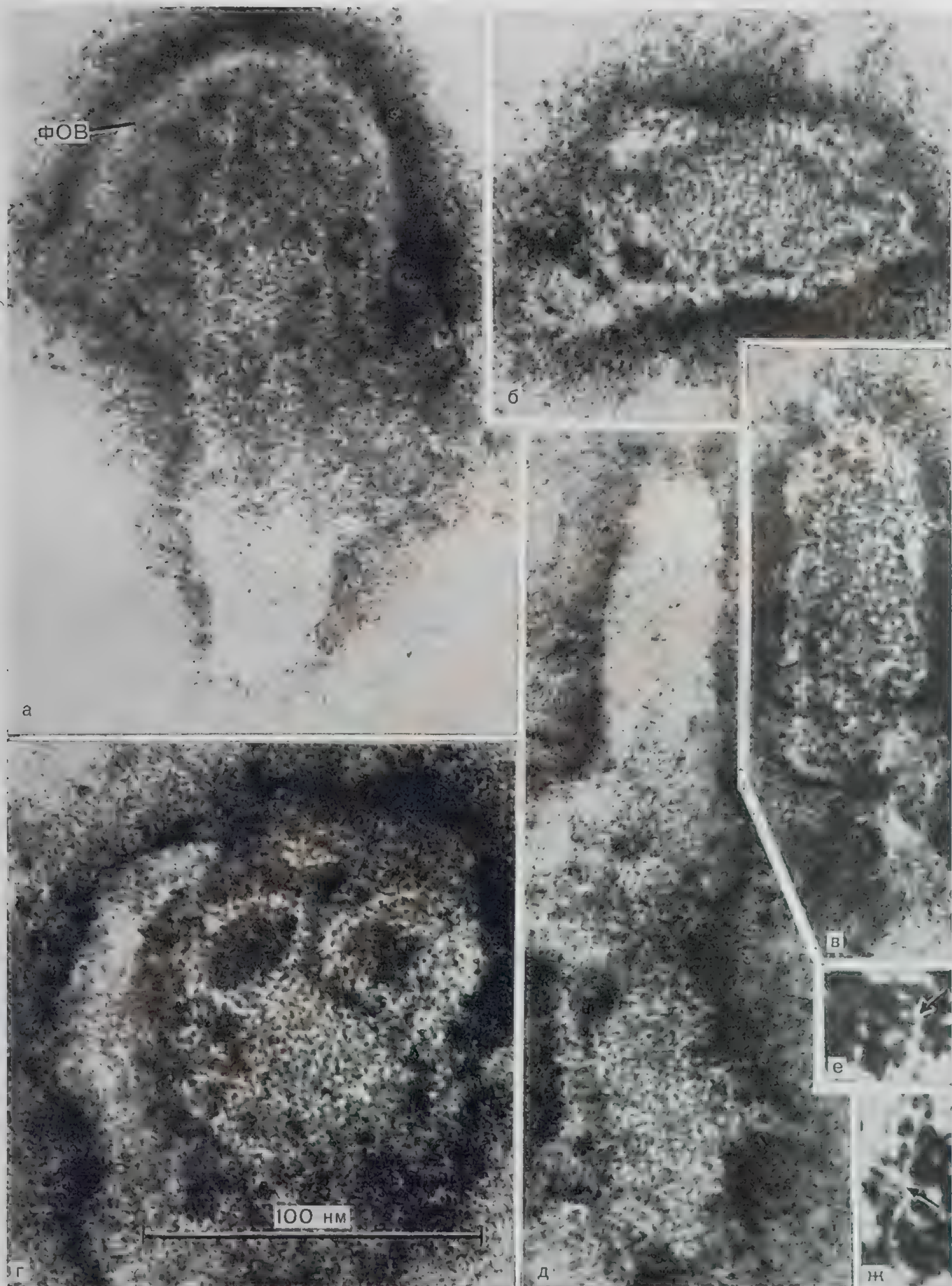
84. Ультраструктура вирионов (а—г) онковируса
Мезон—Пфайзера. Ув. 600 000.

ОВ — оболочка вируса; ВС — внутренний
(подоболочечный) слой; КСц — капсула сердцевинки;
НВ — нуклеонид вируса.



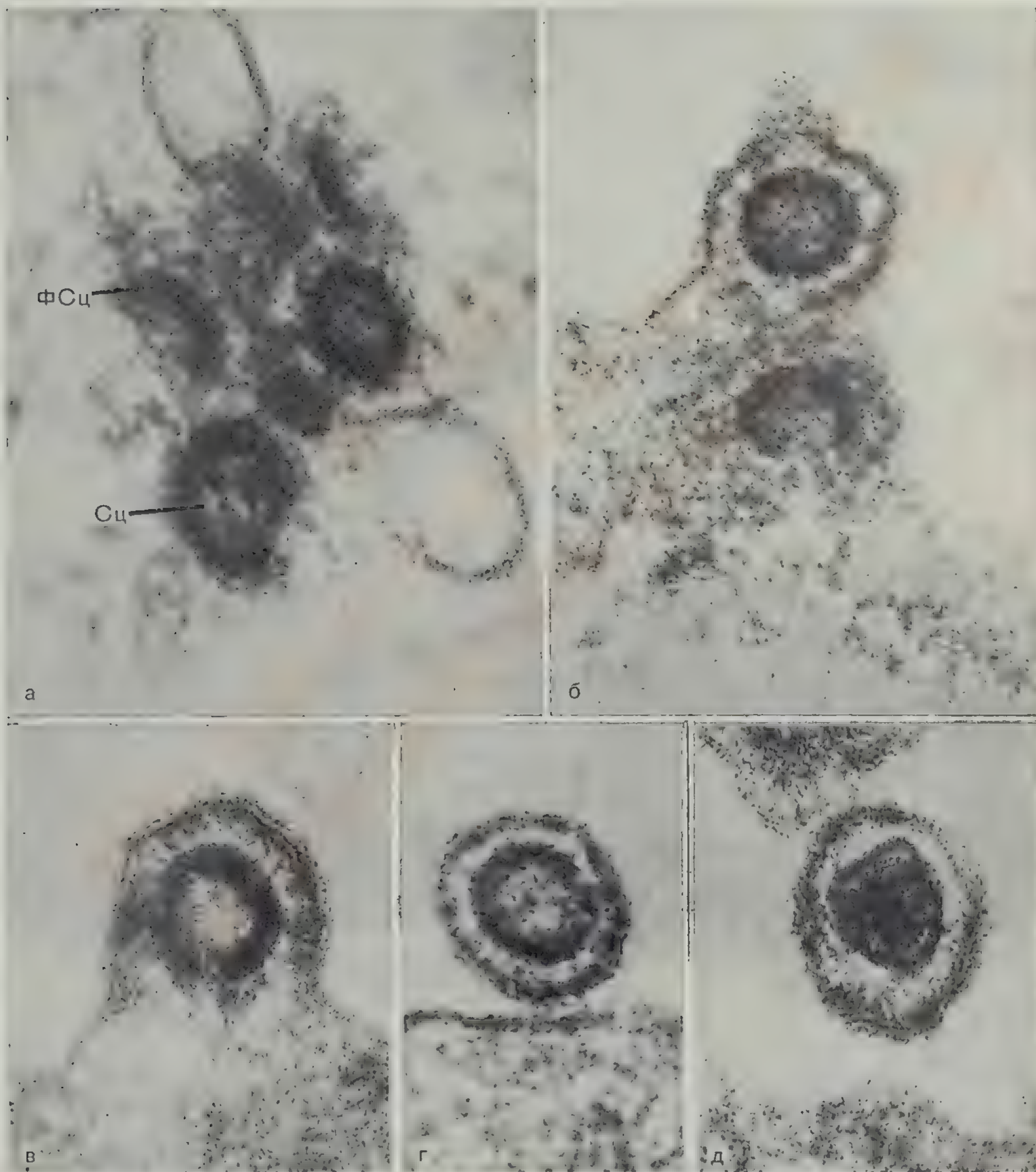
85. Структура сердцевины онковируса
Мезон—Пфайзера.

а—д—ув. 600 000; е, ж — ув. 2 000 000.
Стрелками показаны тяжи вирусного РНП. ФОВ—
фрагменты оболочки вируса.



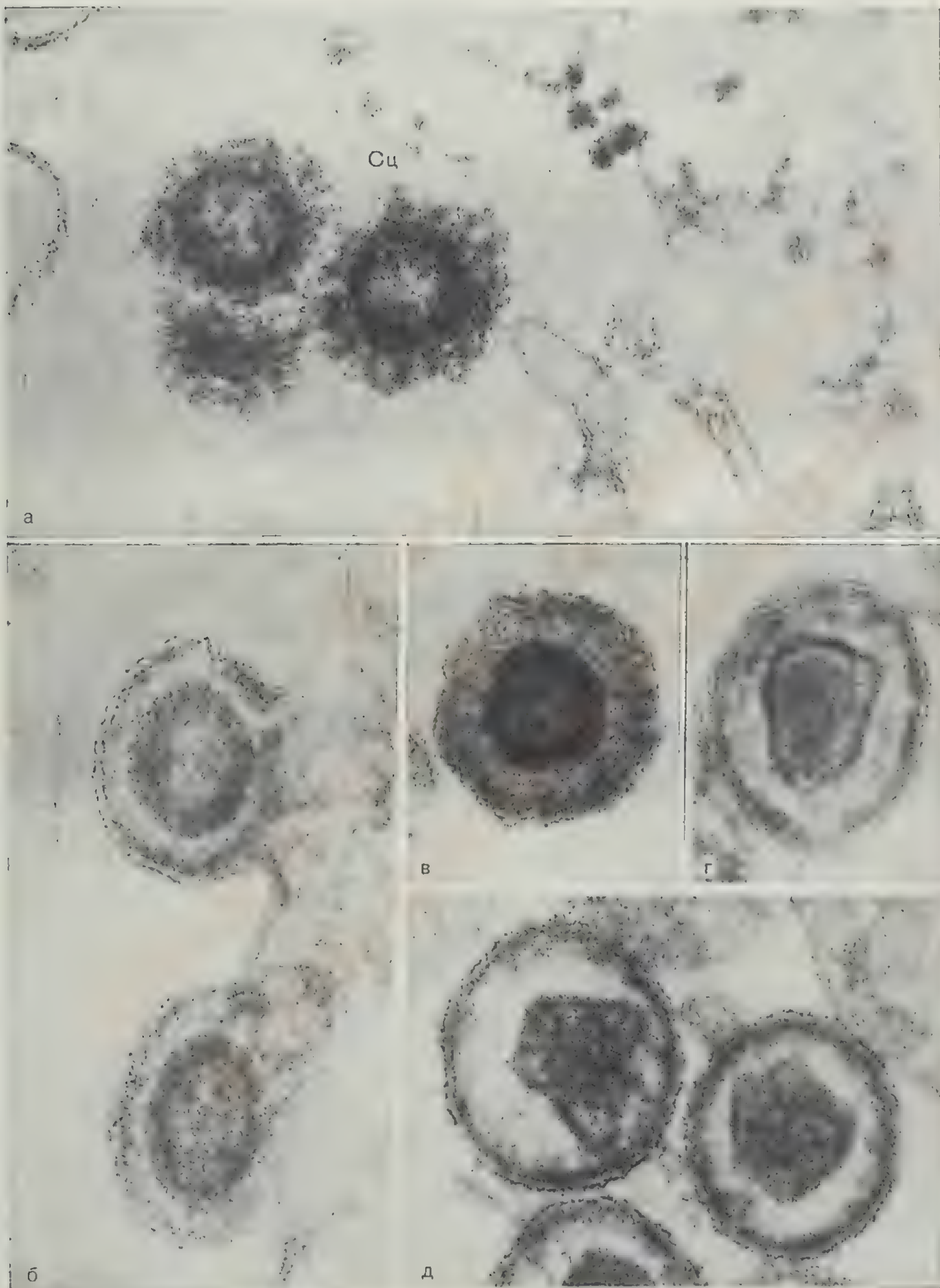
86. Структура и морфогенез эндогенного онковируса
белых обезьян (препарат U. Heine,
G. Todaro).

а—формирующиеся (ФСц) и сформированные (Сц)
сердцевиды; б, в — почкование вируса на
поверхности клетки; г — внеклеточный онковирус
типа А; д — внеклеточный онковирус типа Д.
Ув. 300 000.

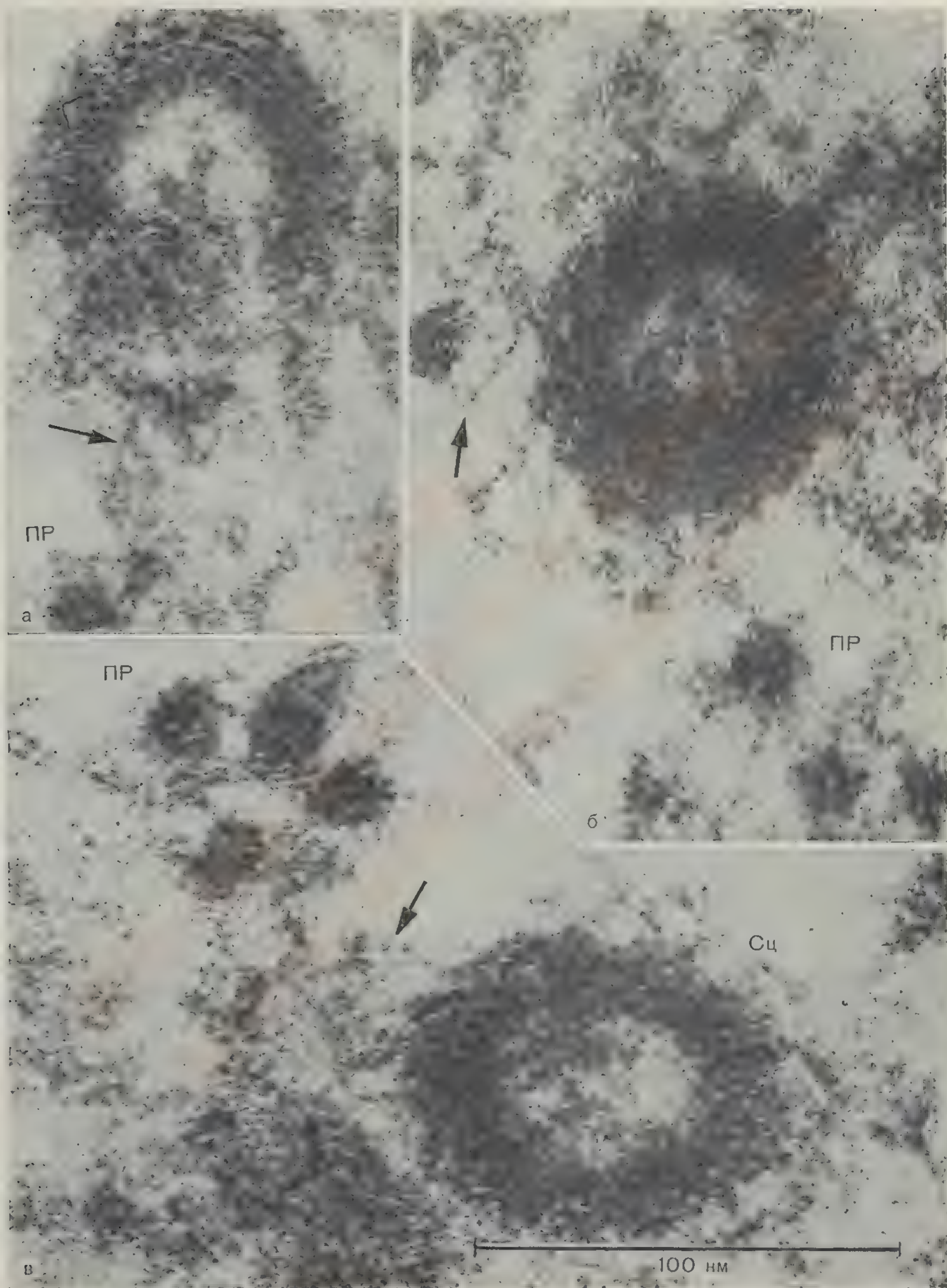


87. Структура и морфогенез онковируса миеломных клеток человека (RPMI-8226).

а — формирование сердцевин (Сц) онковируса в цитоплазме; б — почкование онковируса на поверхности клетки; в — внеклеточный онковирус типа А; г, д — внеклеточные онковирусы типа D. Ув. 300 000.

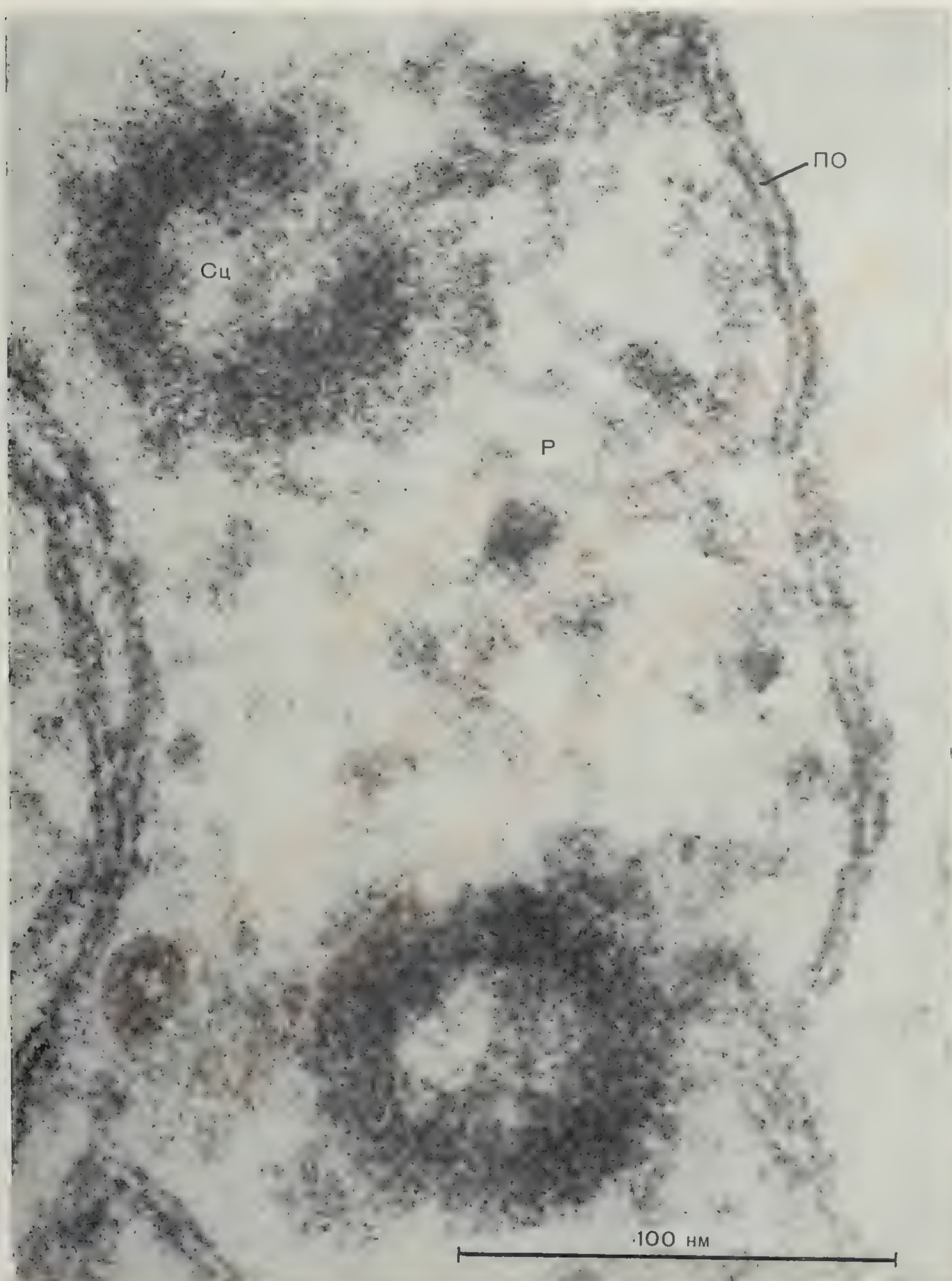


88. Различные стадии (а—в) формирования сердцевин (Сц) онковируса типа А (D) вблизи линейных полирибосом (ПР). Ув. 760 000. Стрелками указаны осмиофильные тяжи, соединяющие рибосомы и сердцевин онковирусов.



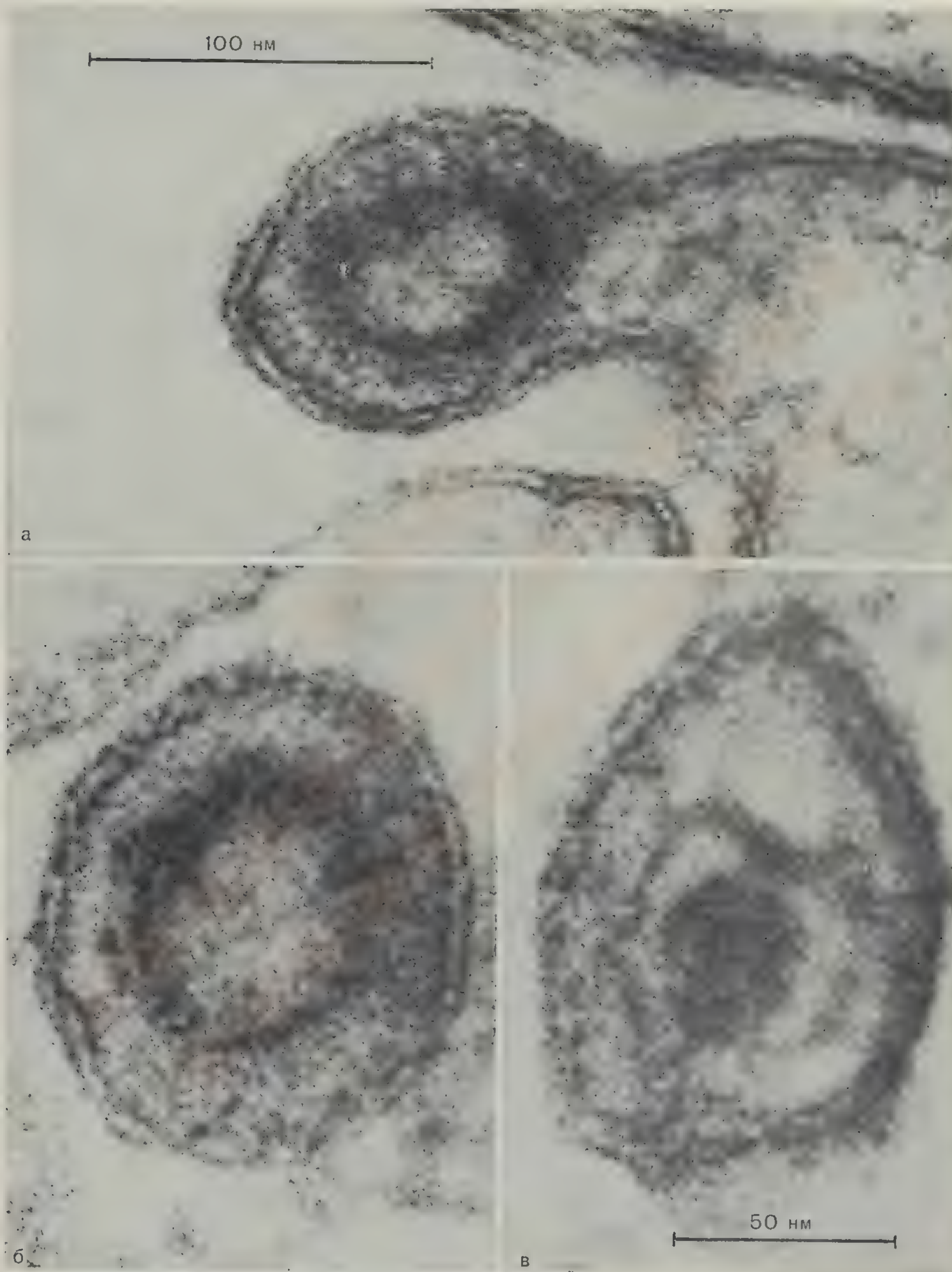
89. Локализация сердцевин онковируса типа А (D)
вблизи плазматической оболочки (ПО) клетки
ПЕр-2. Ув. 760 000.

Р — рибосомы; Сц — сердцевина.

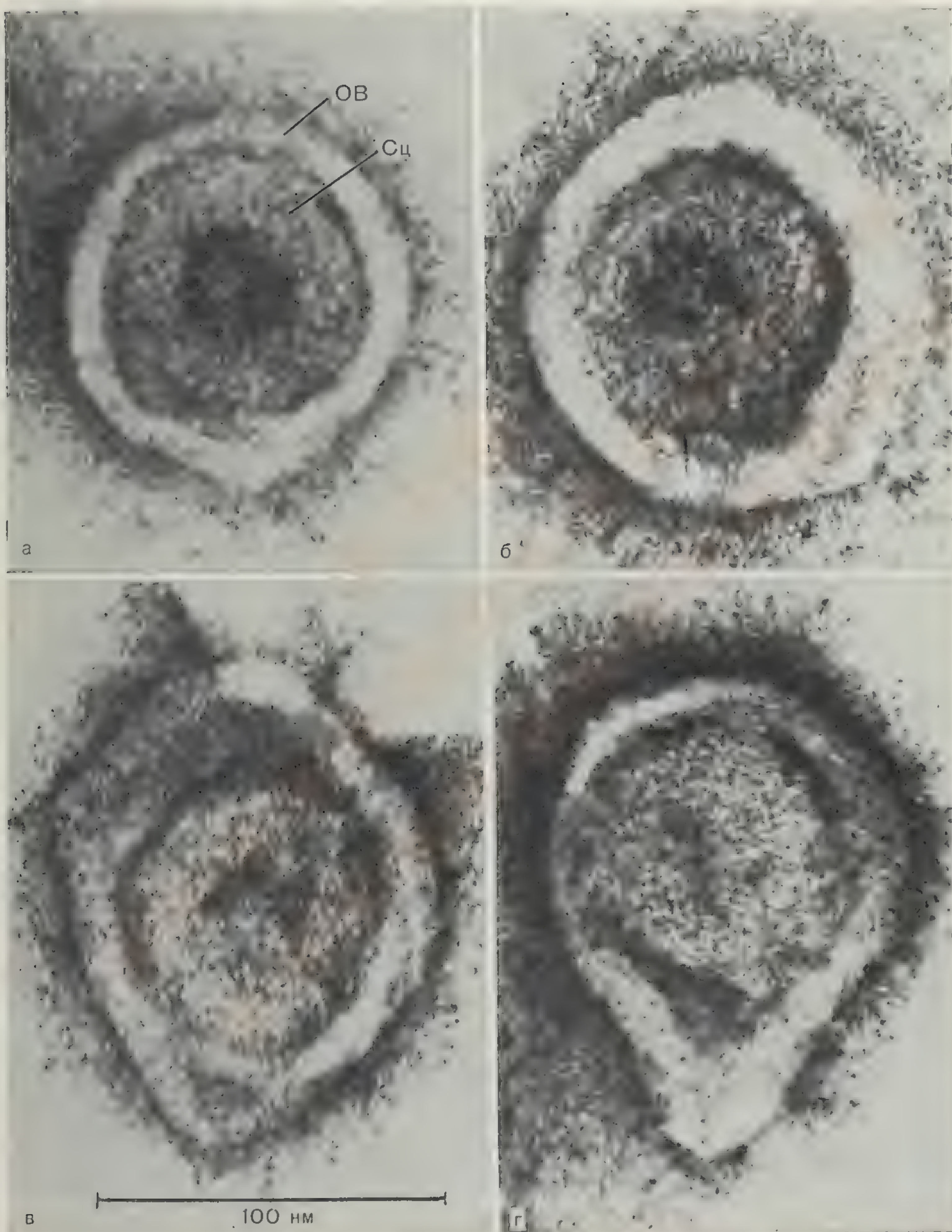


90. Морфогенез онковируса рака молочной железы обезьян — вируса Мезон—Пфайзера.

а — почкование онковируса. Ув. 600 000; б —
внеклеточный онковирус типа А (D), Ув. 760 000;
в — внеклеточный онковирус типа D, Ув. 760 000.

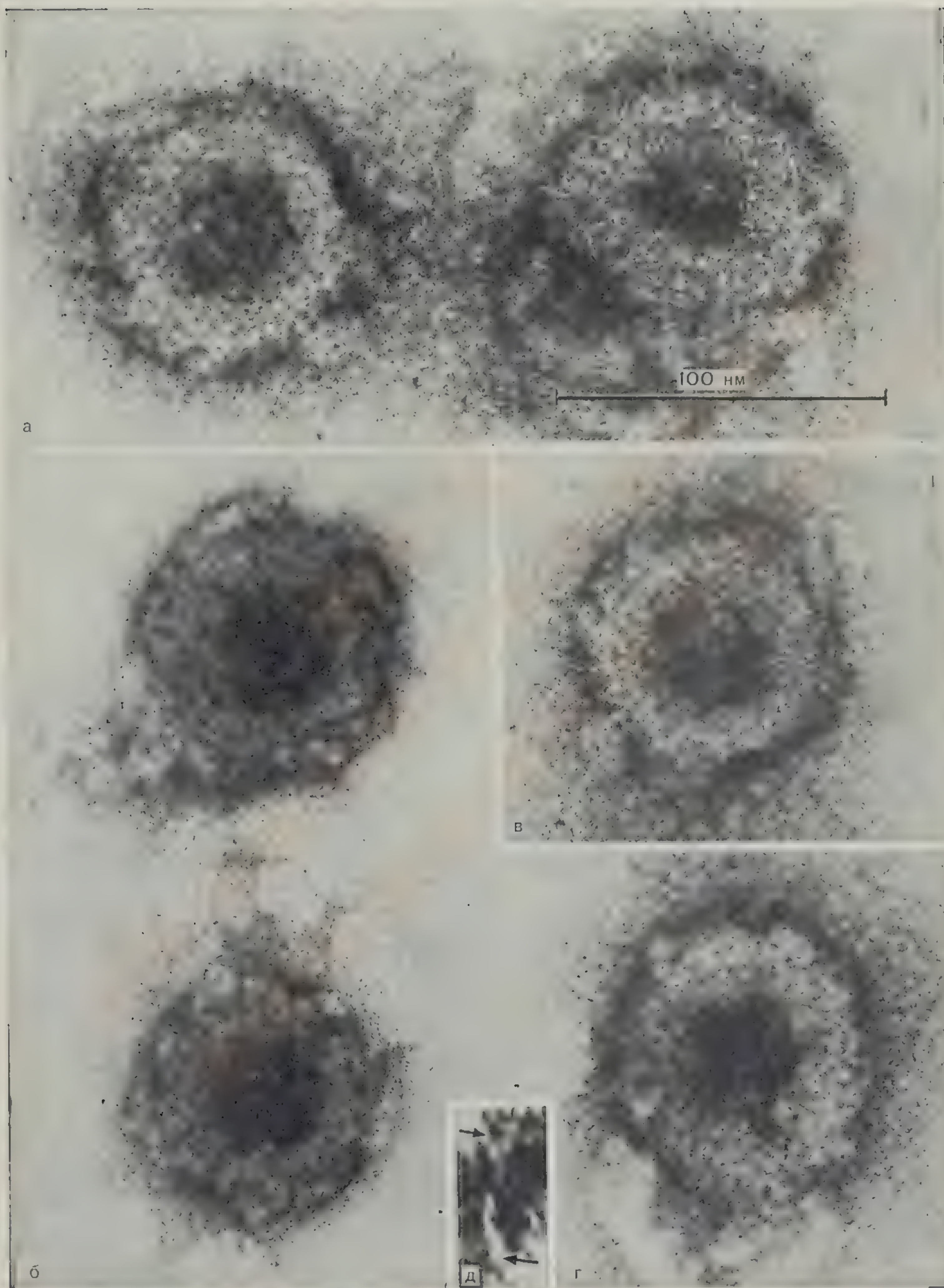


91. Структура внеклеточных (а—г) онковирусов
 типа А (D) (негативное контрастирование).
 Ув. 600 000.
 ОВ — оболочка вируса; Сц — сердцевина.



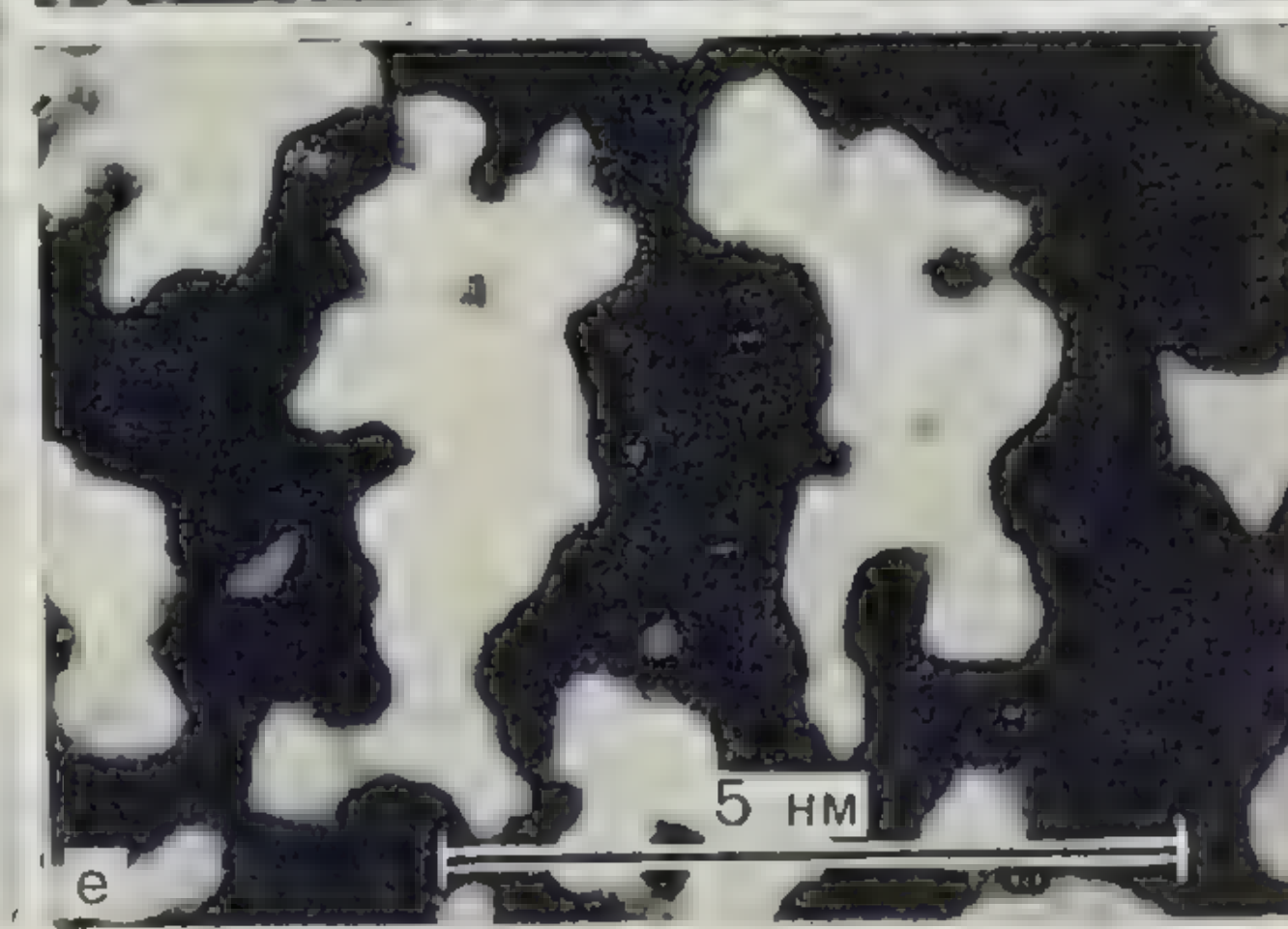
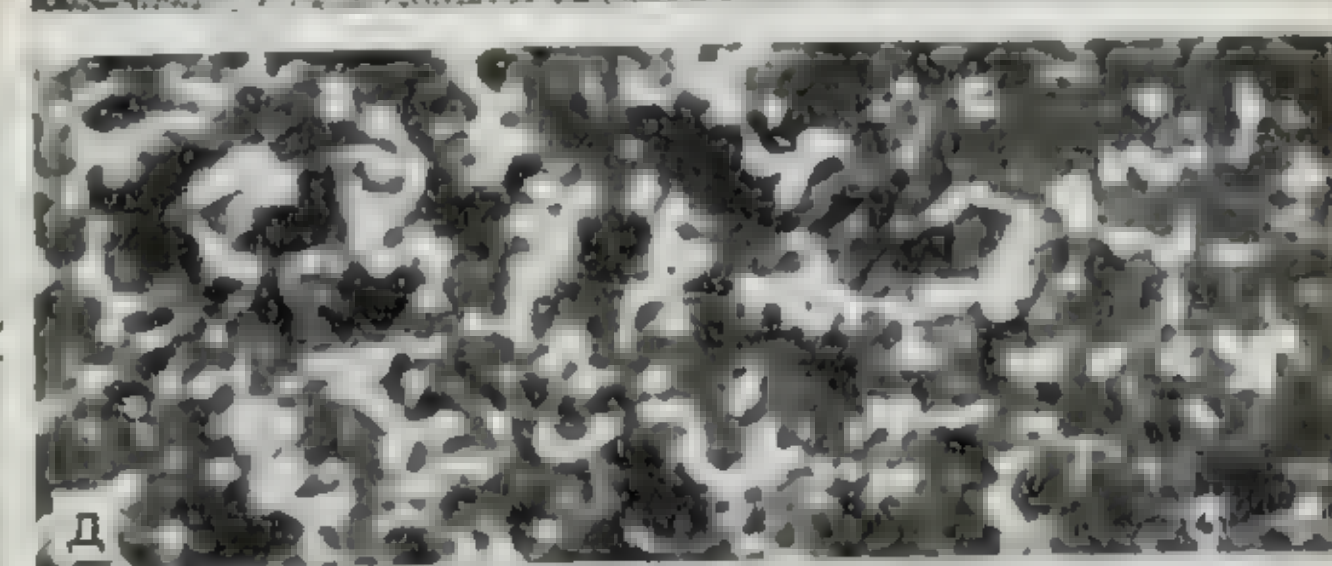
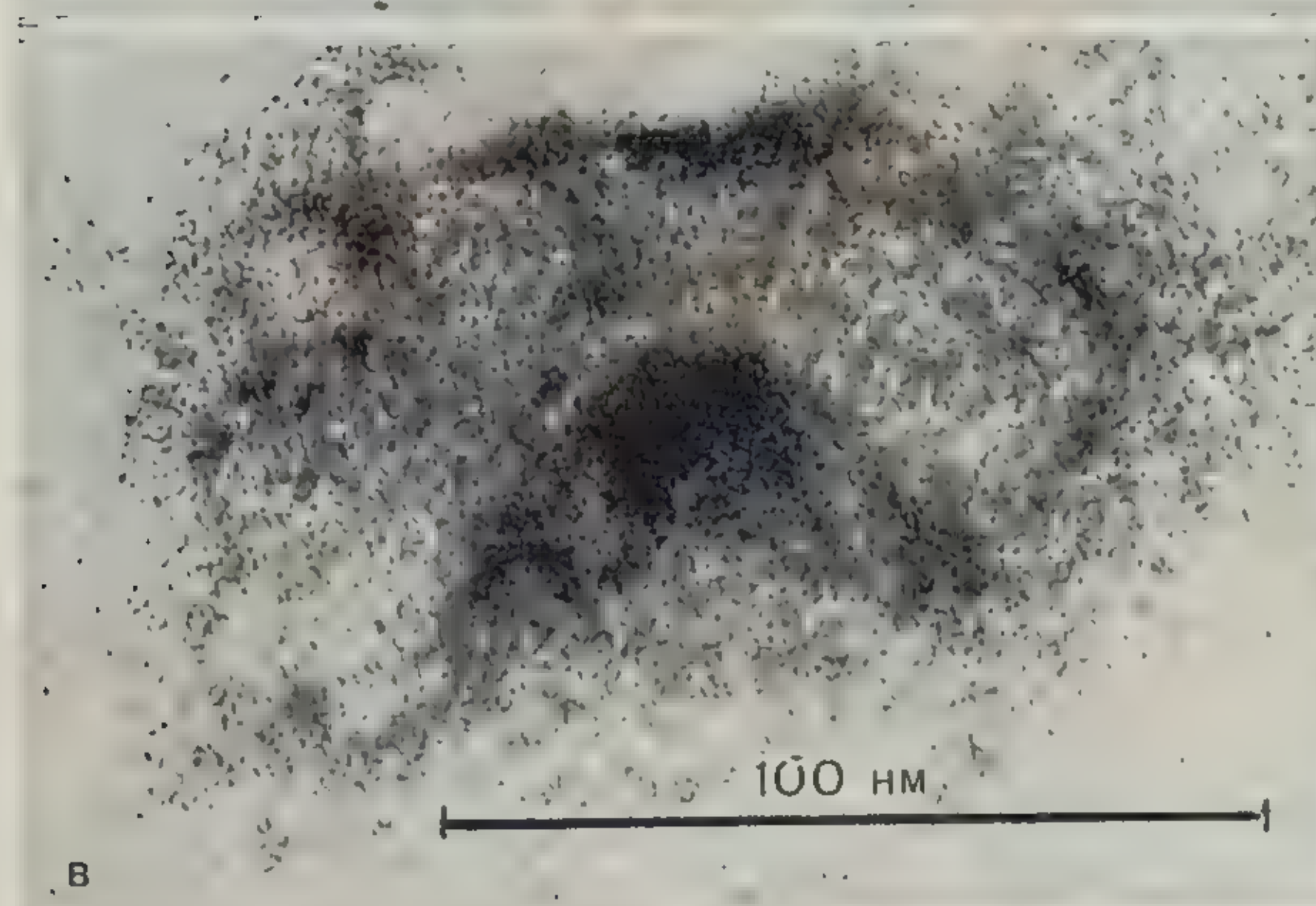
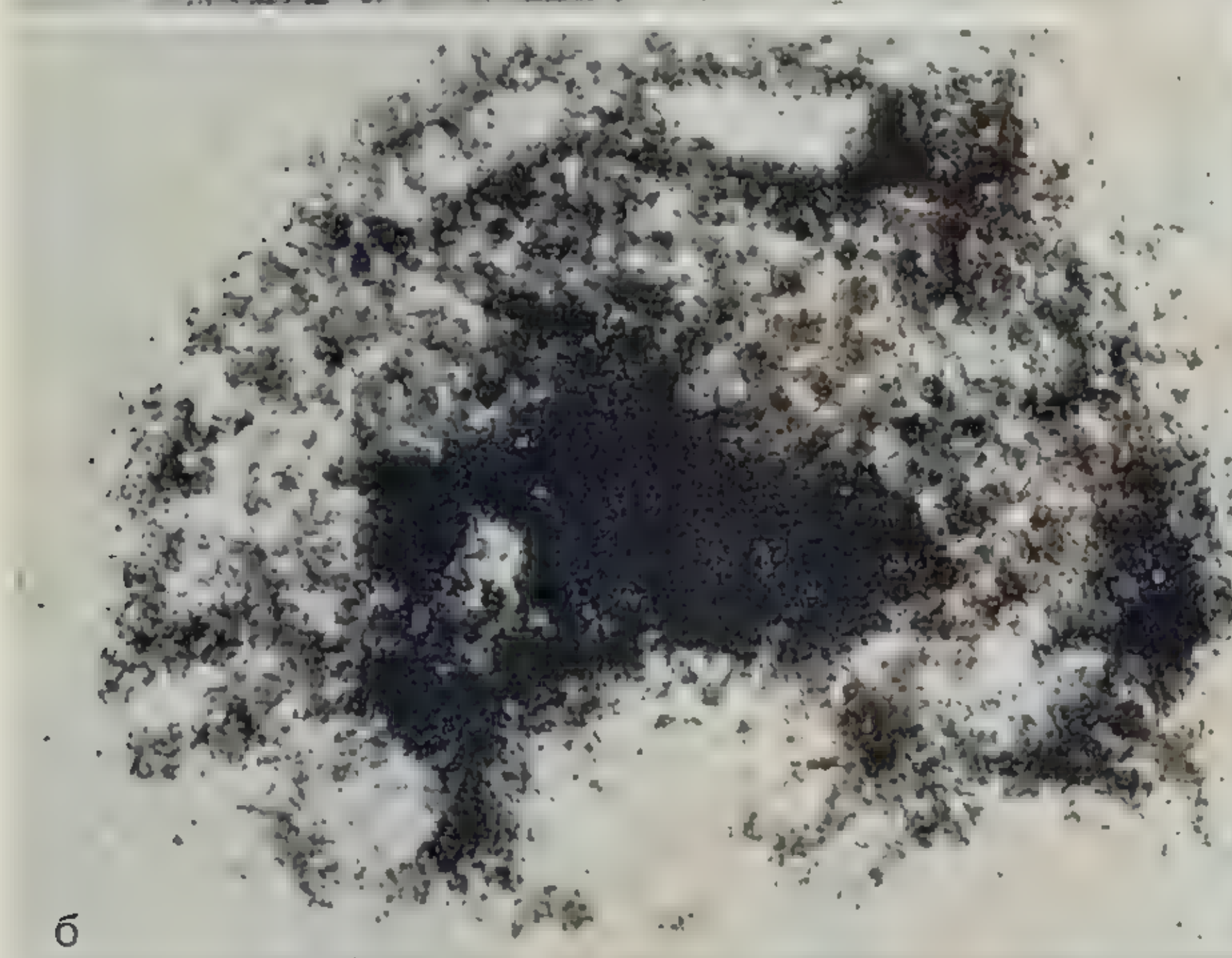
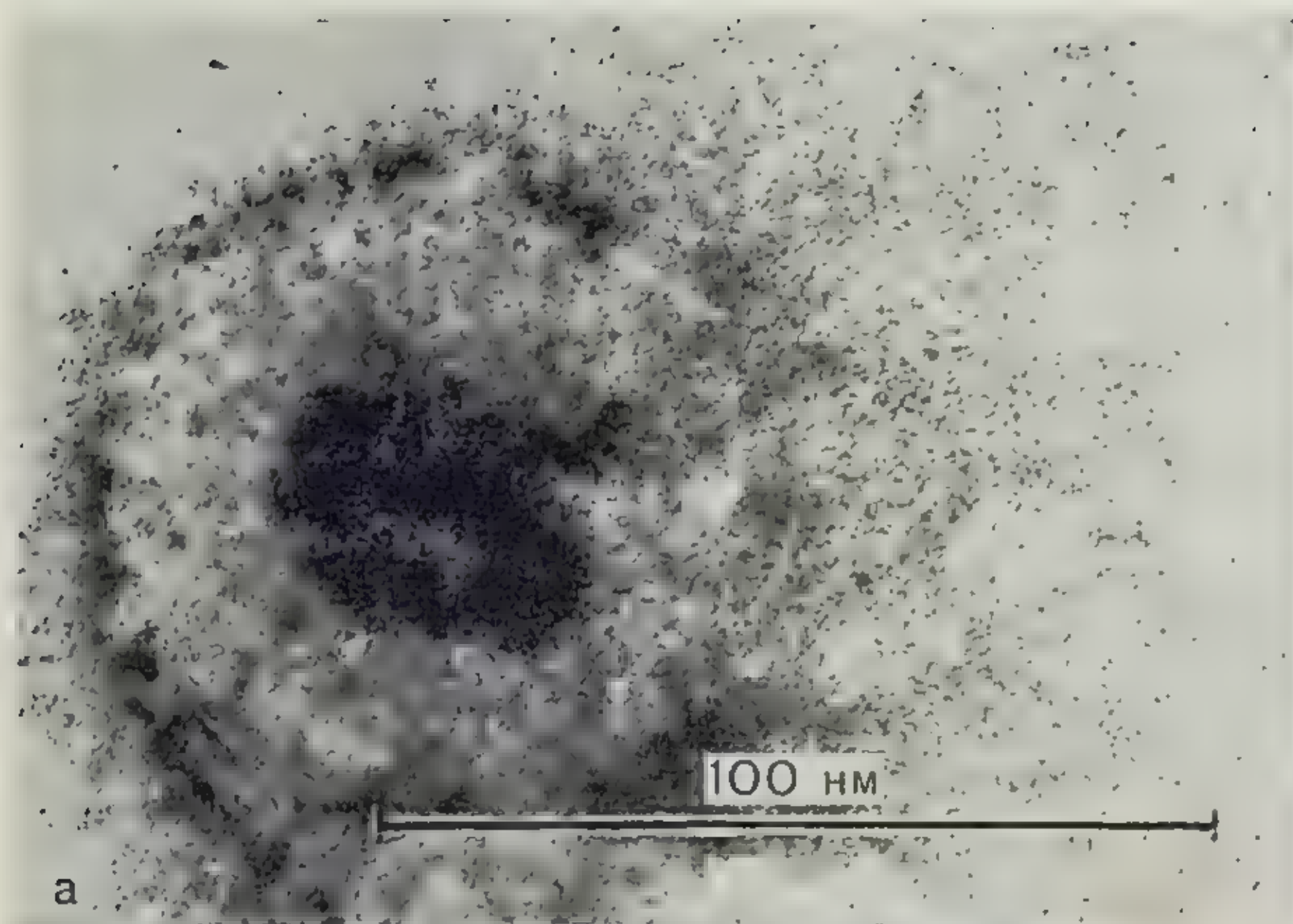
92. Ультраструктура сердцевин онковирусов
типа А (D).

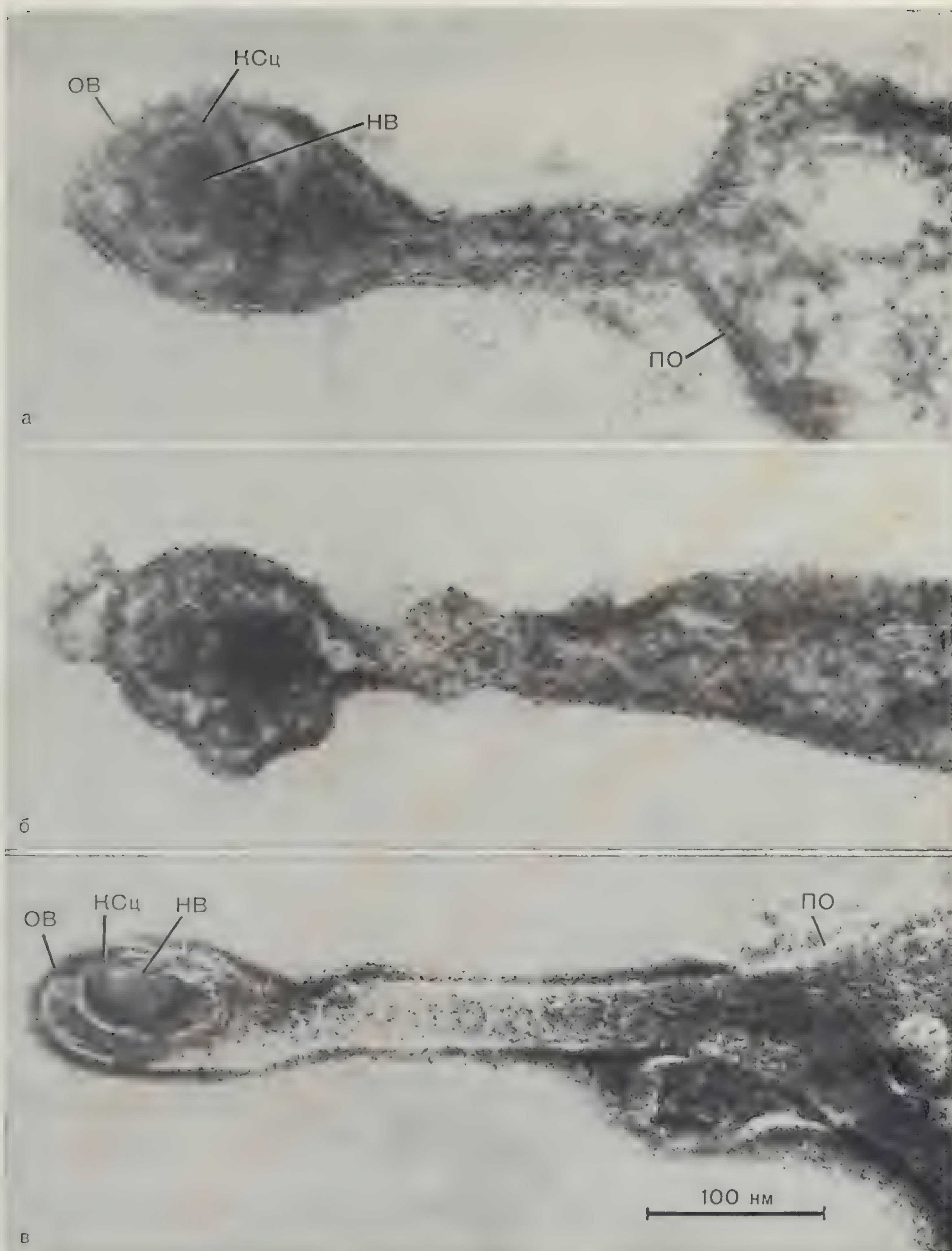
а—г—ув. 600 000; д — ув. 2 500 000. Стрелками
указаны тяжи толщиной 0,7-0,8 нм.



93. Распад сердцевинки онковируса типа А (а—е).

в с выв. является спиральная структура
сердцевинки (указано стрелками). Ув. 600 000.
Фрагменты спиралей на в, с при ув. 5 000 000,





94. Различные варианты почкования
предсформированных сердцевин онковирусов
типа D на поверхности клеток НЕр-2.

ОВ — оболочка вируса; КСц — капсула сердцевин;
НВ — нуклеонд вируса; ПО — плазматическая
оболочка. а, б — ультратонкие срезы. Ув. 300 000;
в — негативное контрастирование. Ув. 300 000.

торая так же, как оболочка вирионов типа D, состоит из наружной и внутренней осмифильных мембран толщиной около 2 нм и средней — осмифобной зоны толщиной более 3 нм. В центре вириона локализуется полая сферическая сердцевина диаметром 70—80 нм. Толщина сферы сердцевинны равна 20 нм. В толще сферы нуклеонда на ультратонких срезах обнаруживается «радиальная исчерченность», которая выявляется более отчетливо по периферии сердцевинны. При изучении очищенных фракций методом негативного контрастирования установлено, что «радиальная исчерченность» образуется определенным образом упакованными тяжами толщиной 2 нм, а вся поверхность сердцевинны — вершинами петель этих тяжей диаметром 5—6 нм (рис. 92). Супрамолекулярная организация описываемых структур выявляется более отчетливо при их деструкции, когда удается проследить переход тяжей диаметром 2 нм в нити толщиной 0,6—0,7 нм (рис. 92, 93).

Предполагают [Быковский А. Ф. и др., 1971; Ильин К. В., Быковский А. Ф., Спуре Ж. Ж., 1972; Быковский А. Ф. и др., 1973], что онковирусы типа D не являют-

ся заключительной стадией внеклеточного созревания онковирусов типа A, а проходят самостоятельный онтогенетический цикл развития. Однако при последующем изучении препаратов, фиксированных по методу Дальтона (который позволяет выявить трехслойное строение оболочек клетки и вируса), нам не удалось достоверно продемонстрировать образование вирионов типа D в процессе почкования сформированных сердцевин через оболочку клетки, несмотря на то что по отдельным фотографиям такой процесс можно было предполагать (рис. 94).

Доказательства того, что онковирусы типа A и D проходят в клетке самостоятельные онтогенетические циклы развития, были получены в последующих работах, выполненных с помощью молекулярно-биологических методов [Букринская А. Г. и др., 1974, 1975; Миллер Г. Г. и др., 1974, 1975].

По-видимому, этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении. В настоящее время большая часть исследователей считают онковирусы типа A(D) промежуточной стадией в цикле развития онковирусов типа D.

В семейство *Retroviridae* входит подсемейство *Lentivirinae* («медленных» вирусов) — ретровирусов типа Е и подсемейство *Spumavirinae* («пенящихся» вирусов) — ретровирусов типа F [Dalton et al., 1974, 1975]. Скорее всего, к этому семейству целесообразно отнести и группу R-вирусов, обозначив их как ретровирусы типа G.

Подсемейство медленных вирусов объединяет вирусы висны, мади, прогрессирующей пневмонии овец и, по-видимому, вирус инфекционной анемии лошадей. Перечисленные члены подсемейства вызывают медленно прогрессирующий менинголейкоэнцефалит и интерстициальную пневмонию овец. С ними, вероятно, ассоциирована также этиология аденоматоза легких овец. Вирусы висны и мади *in vitro* вызывают трансформацию клеток мыши и человека.

Медленные вирусы обладают рядом физико-химических и биологических свойств, свидетельствующих об их сходстве с онковирусами: они содержат однопитчатую РНК с молекулярной массой $10-12 \cdot 10^6$ п коэффициентом седиментации 60—70S; вирусная РНК состоит из субъединиц (30—35S) с молекулярной массой $2,8 \cdot 10^6$ каждая [Chelvers et al., 1977]; вирионы содержат РНК-зависимую ДНК-полимеразу; ДНК-транскрипты генома медленных вирусов интегрированы с геномом клетки [Haase et al., 1977]; РНК вируса висны содержит участки, состоящие из поли-А размером 50—200 нуклеотидов [Gillespie et al., 1973], число и подвижность структурных белков лентивирусов сходны с белками вируса саркомы Рауса [Haase et al., 1974].

Обнаружено два типа внеклеточного вируса висны. В количественном отношении преобладали вирионы первого типа со средними размерами 114×82 нм (в ультратонких срезах их в 40—80 раз больше). Толщина оболочки вириона составляет в среднем 8—9 нм. Чаще всего в полости вирионов эксцентрически располагается электронно-оптически плотная сердцевина размерами 49×33 нм. Сердцевины окру-

жены осmioфильными капсулами. Пространство между оболочками вириона и капсулой характеризуется невысокой электронно-оптической плотностью (рис. 95, 96).

В негативно окрашенных препаратах вируса инфекционной анемии лошадей внутри вирионов чаще всего видели копические сердцевинки (длина конуса 75—95 нм, диаметр на узком конце 20 нм, на широком 45 нм). Иногда нуклеониды имеют вид трубки длиной до 125 нм и шириной 25—35 нм [Weiland et al., 1977]. В негативно окрашенных препаратах очищенного вируса висны в вирионах внутренняя капсула имела толщину около 1 нм. Разрыв оболочки и внутренней мембраны часто сопровождался раскручиванием нуклеокапсида, который, по-видимому, имеет спиральную укладку и состоит из нитей толщиной около 2,5 нм [Pautrat et al., 1971].

Частицы другого морфологического типа имеют округлую или овальную форму. Их размеры около 120—150 нм. Непосредственно под оболочкой, тесно прилегая к ней, располагается электронно-оптически плотный слой, где у некоторых частиц можно заметить поперечную исчерченность. Общая толщина оболочки и описанного слоя составляет приблизительно 21 нм. Центральную область частиц занимает аморфное вещество, по плотности близкое к гиалоплазме. Диаметр этой электронно-оптически светлой зоны вируса составляет 80—110 нм.

По мнению ряда авторов [Takemoto et al., 1973; Haase, 1975], глобулярные единицы на поверхности вирусных почек и внеклеточных вирионов вируса висны, по-видимому, соответствуют гликопротеидам. В негативно окрашенных препаратах вирусов висны и прогрессирующей пневмонии наблюдали отростки длиной 5—10 нм, напоминающие отростки вируса саркомы Рауса [Takemoto et al., 1973]. Отростки на поверхности вируса инфекционной анемии лошадей при негативном окрашивании имели форму шара диаметром 6—8 нм, а

в ультратонких срезах их длина составляла 10—12 нм [Weiland et al., 1977]. По данным Dubois-Dalcq и сотр. (1976), в срезах длина отростков на поверхности почкующихся частиц вируса висны составляла 8 нм, а расстояние между ними 20 нм. При изучении методом замораживания — травления эти исследователи заметили закономерность — увеличение (от 13 до 18 нм) величины глобулярных отростков и расстояния между ними в зависимости от стадии почкования и созревания вирионов, что авторы связывают с постоянным добавлением к поверхности почки вирусных белков, как это наблюдали ранее при продуктивной коревой инфекции [Dubois-Dalcq et al., 1975].

После внесения вируса висны в перmissive культуру клеток происходит адсорбция вируса на клеточной поверхности, а затем проникновение в клетку в процессе виоинекции (рофеоцитоза, пипоцитоза). Уже через 10 мин после заражения клеток при 4° С вирионы локализовались в цитоплазматических вакуолях [Pautrat et al., 1976]. Изредка наблюдали также картины, которые можно было интерпретировать как слияние вирусной и клеточной оболочек [Chippaux-Hyppolite et al., 1972]. В инфицированных клетках через различные сроки их взаимодействия с вирусом были описаны различные внутрицитоплазматические структуры, которые трактуются как стадии внутриклеточного развития вирионов (см. рис. 95).

В настоящее время наиболее распространены представления о том, что заключительные этапы морфогенеза вирусов этого подсемейства соответствуют схеме, предложенной ранее для опковиров [Sarkar et al., 1971].

Dubois-Dalcq и сотр. (1976), используя различные методики (замораживание — скалывание, глубокое травление, скапирующая электронная микроскопия и ультратонкие срезы), подробно изучили заключительную стадию морфогенеза вируса висны — почкование — и связанные с этим изменения цитоплазматической мембраны. Первые изменения, выявляемые в мембранах инфицированной клетки, состояли в появлении уплощенных участков, лишенных внутримембранных частиц и несущих на поверхности мембраны глобулярные отростки. Выпячивание клеточной мембраны, характерное для процесса почкования, по-видимому, появляется после прикрепления капсида к этим модифицированным участкам мембран. Раннее прикрепление капсидов к модифицированным участкам клеточной мембраны позволяет предположить, что они играют роль в инициации процесса почкования. В конце развития вирусы почкуются с произвольно расположенных участков клеточной поверхности. Конечный этап созревания ви-

руса происходит после отделения вируса от клетки и характеризуется уменьшением размера вирионов (см. рис. 96). Капсид отделяется от оболочки, как бы раскручивается и образует сердцевину. Различные авторы [Pautrat et al., 1976; Dubois-Dalcq et al., 1976] наблюдали переходные формы между большими почкующимися формами — ретровирусами А(Е) и меньшими внеклеточными вирионами типа Е. Параллельно с этим морфологическим созреванием происходит превращение 30—40S РНК в 60—70S [Brahic, Vigne, 1975].

Подсемейство пеющих вирусов (Spumavirinae) достаточно широко распространено в природе. Они обнаружены у птиц, кроликов, кошек, хомяков, крупного рогатого скота, обезьян и человека.

Спумавирусы содержат фермент РНК-зависимую ДНК-полимеразу; однонитчатую РНК 60—70S, состоящую из субъединиц; плавучая плотность вирионов в градиенте сахарозы составляет 1,16 г/см³, а вирусных сердцевин — 1,22—1,24 г/см³ [Parks et al., 1971; Parks, Todaro, 1972; Hooks et al., 1972].

Структура и морфогенез спумавирусов изучены достаточно детально [Захалева В. А., 1974, 1975; Быковский А. Ф. и др., 1975; Агба В. З. и др., 1978; Чувпиров Г. Н., 1978; Jordan et al., 1965; Clark et al., 1967, 1969, 1970; Hooks et al., 1970; Dermott et al., 1971].

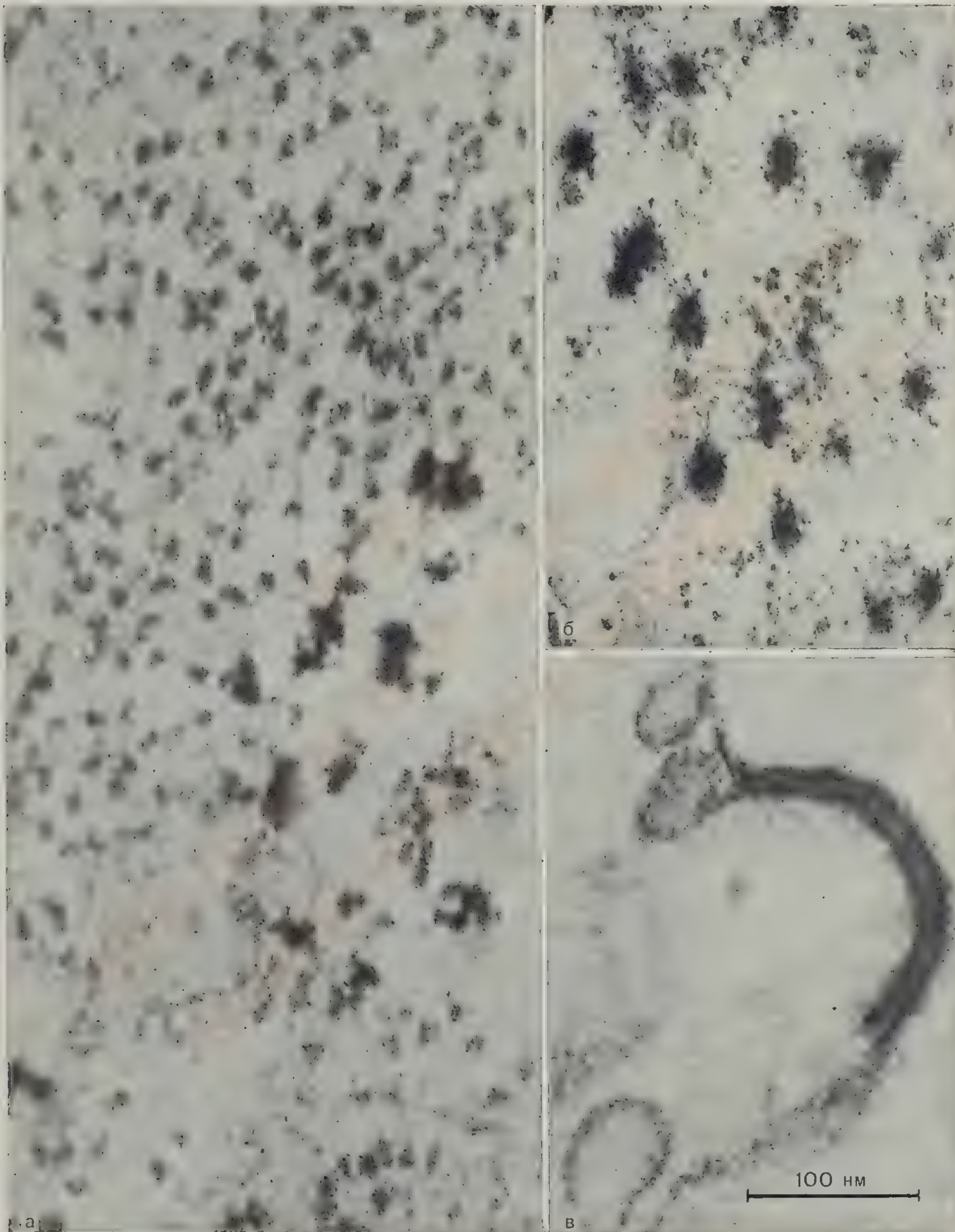
Сердцевины вируса формируются в любом участке интерфазных и делящихся клеток. Их диаметр в ультратонких срезах равен 45—50 нм (рис. 97), при негативном контрастировании ФВК — 60—70 нм [Clarke et al., 1970]. В сферической сердцевине выявляется внутренний электронно-оптически более плотный слой толщиной 7—8 нм и наружный — электронно-оптически менее плотная капсула. Характерная особенность спумавирусов — их способность формироваться в процессе почкования вблизи почти всех мембран клетки: оболочки ядра клетки, мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, внутриклеточных вакуолей, мембран комплекса Гольджи, плазматической оболочки клетки. На поверхности оболочки почкующихся ретровирусов хорошо выявляются отростки длиной 10—12 нм.

Внеклеточные вирионы типа F имеют в основном сферическую форму, их диаметр составляет в среднем 100—110 нм. Вирионы покрыты оболочкой толщиной 7—8 нм, на поверхности которой локализуются отростки шириной 4—5 нм и длиной 10—15 нм.

В условиях смешанной инфекции спумавирусов с вирусами осповакцины, с респираторно-синцитиальным вирусом формируются различные аномальные формы спумавирусов [Захалева В. А., 1975]. Наибольший интерес представляют изменение

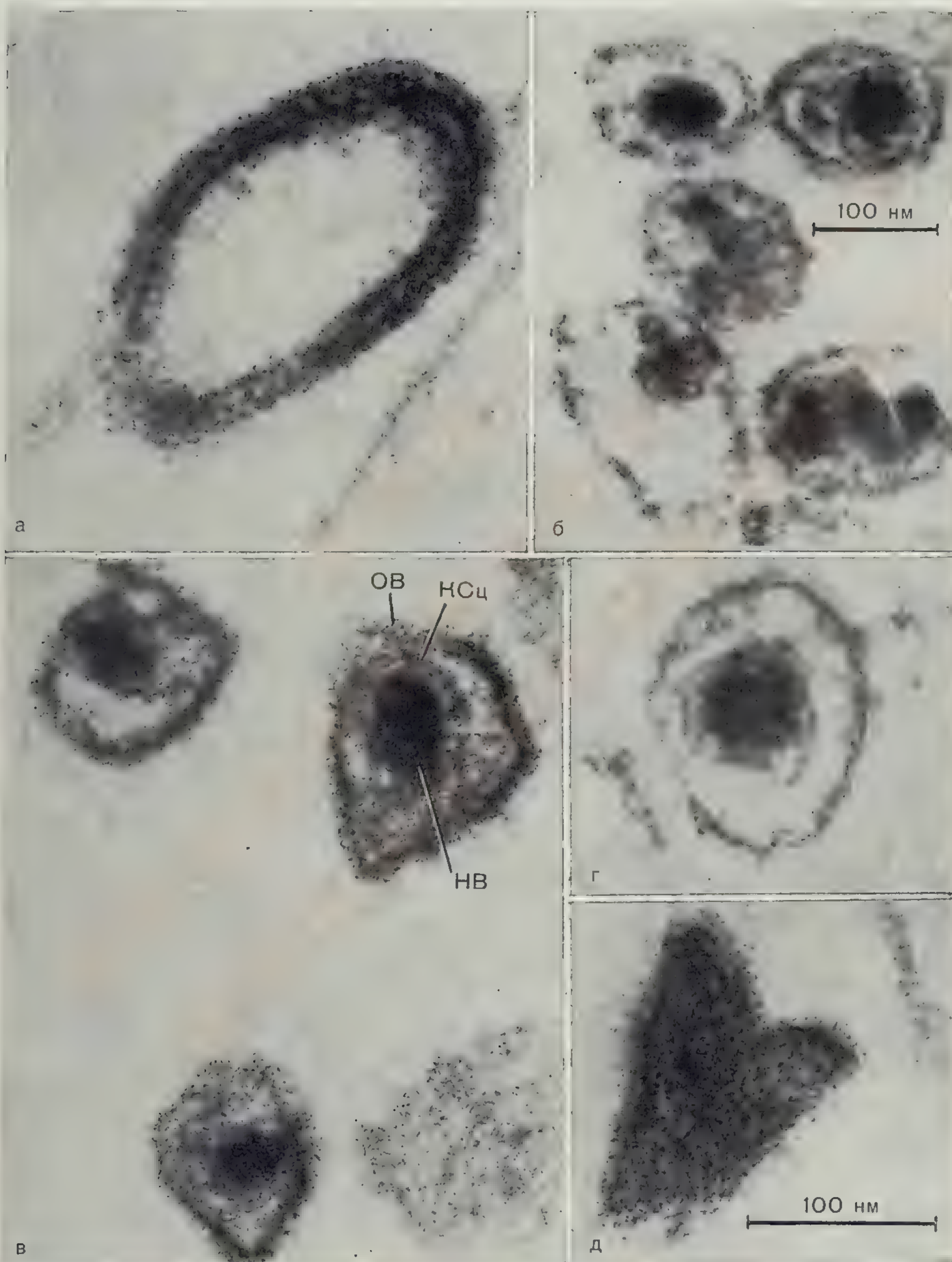
95. Этапы морфогенеза лентивирусов.

а, б — скопления осmioфильного компонента в цитоплазме клеток, инфицированных вирусом висны. Ув. 300 000; в — формирование вириона типа А вируса висны на плазматической мембране клетки. Ув. 300 000.



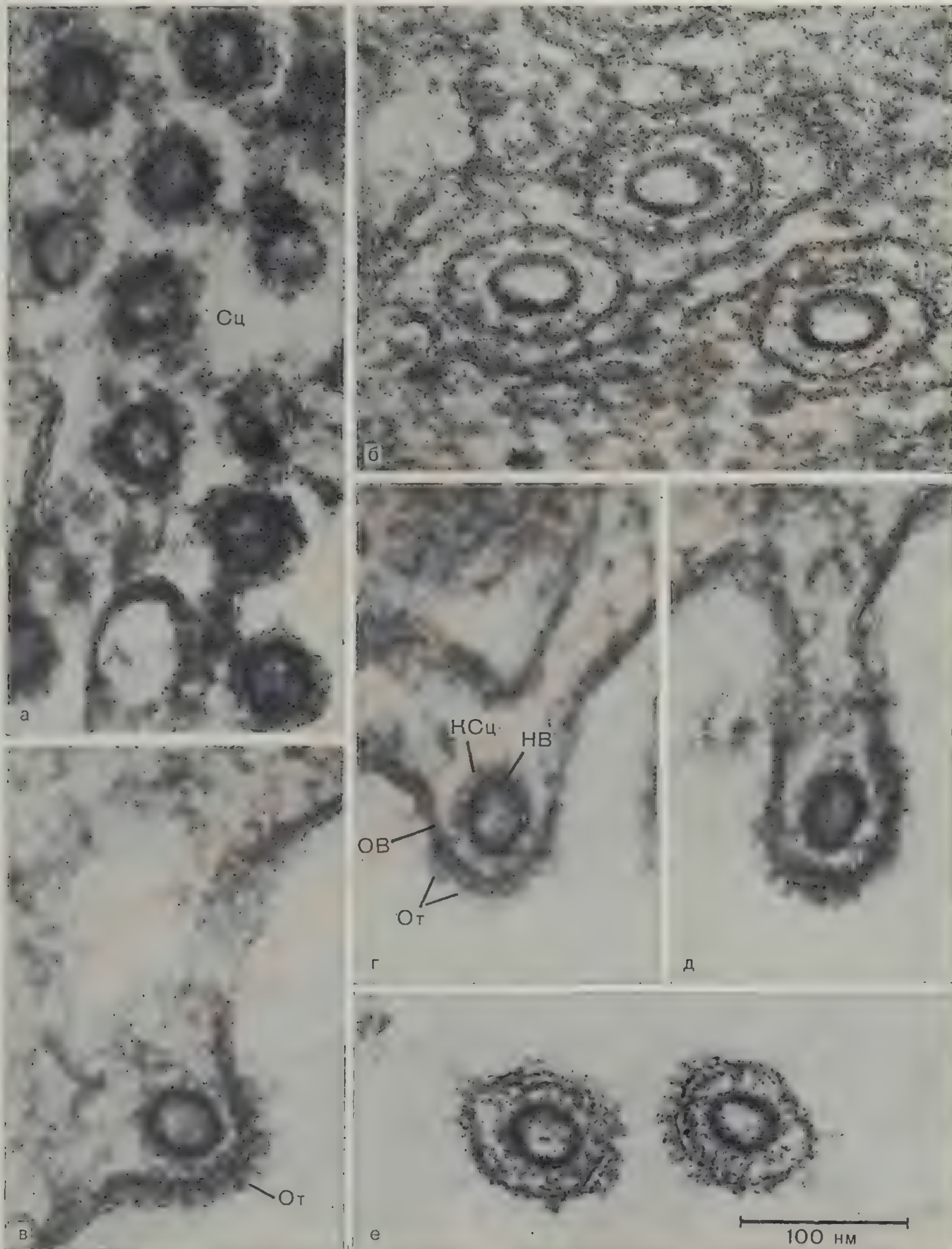
96. Структура внеклеточных вирионов вируса
висны.

ОВ—оболочка вируса; КСц — капсула сердцевины;
НВ — нуклеоид вируса, а — внеклеточный вирион
типа А. Ув. 300 000; б—г—внеклеточные вирионы
вируса висны, сходные с типом В; д — внеклеточное
осмифильное образование с недифференцированной
внутренней структурой. а, в—д—ув. 300 000; б —
ув. 200 000.



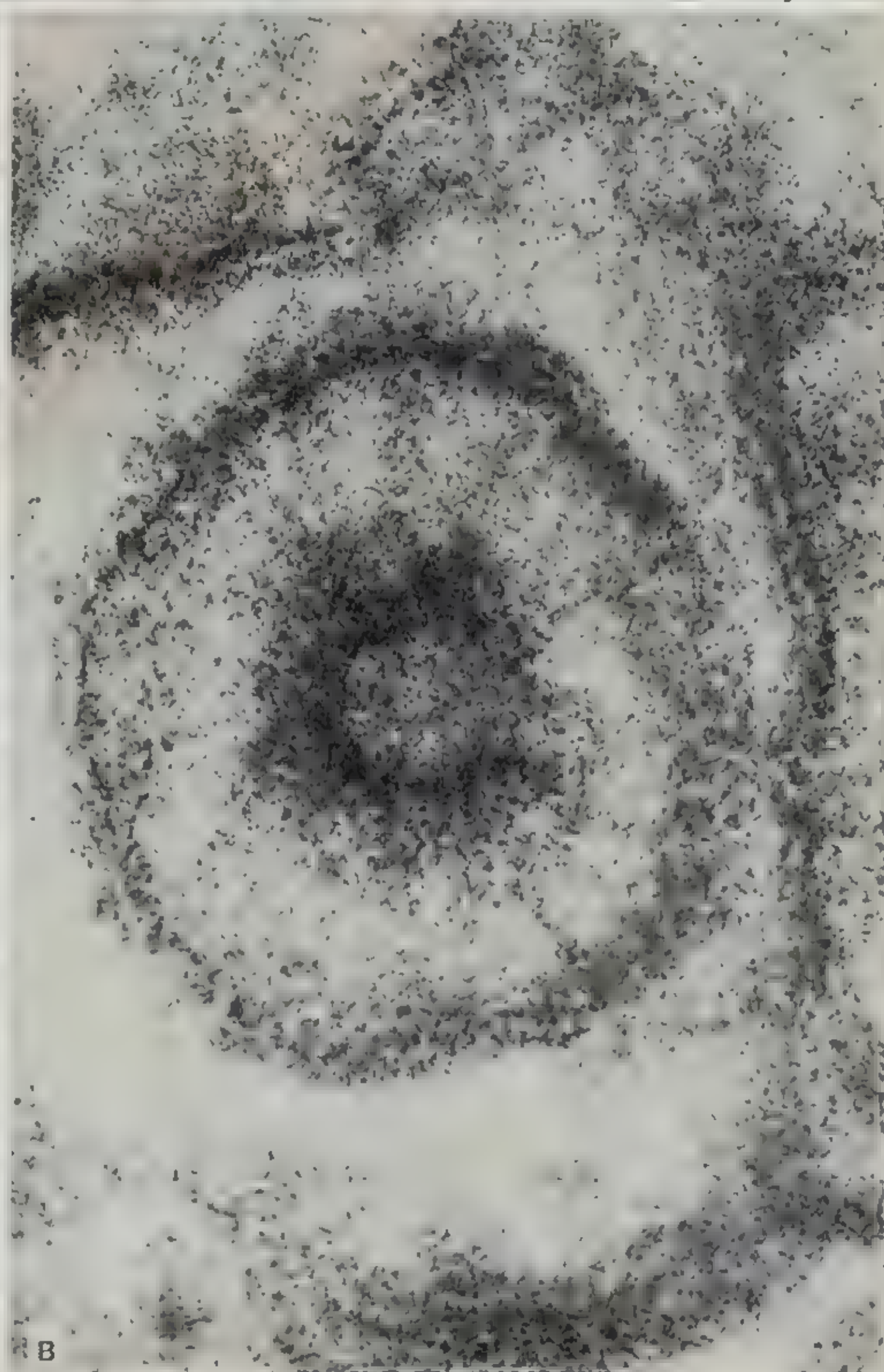
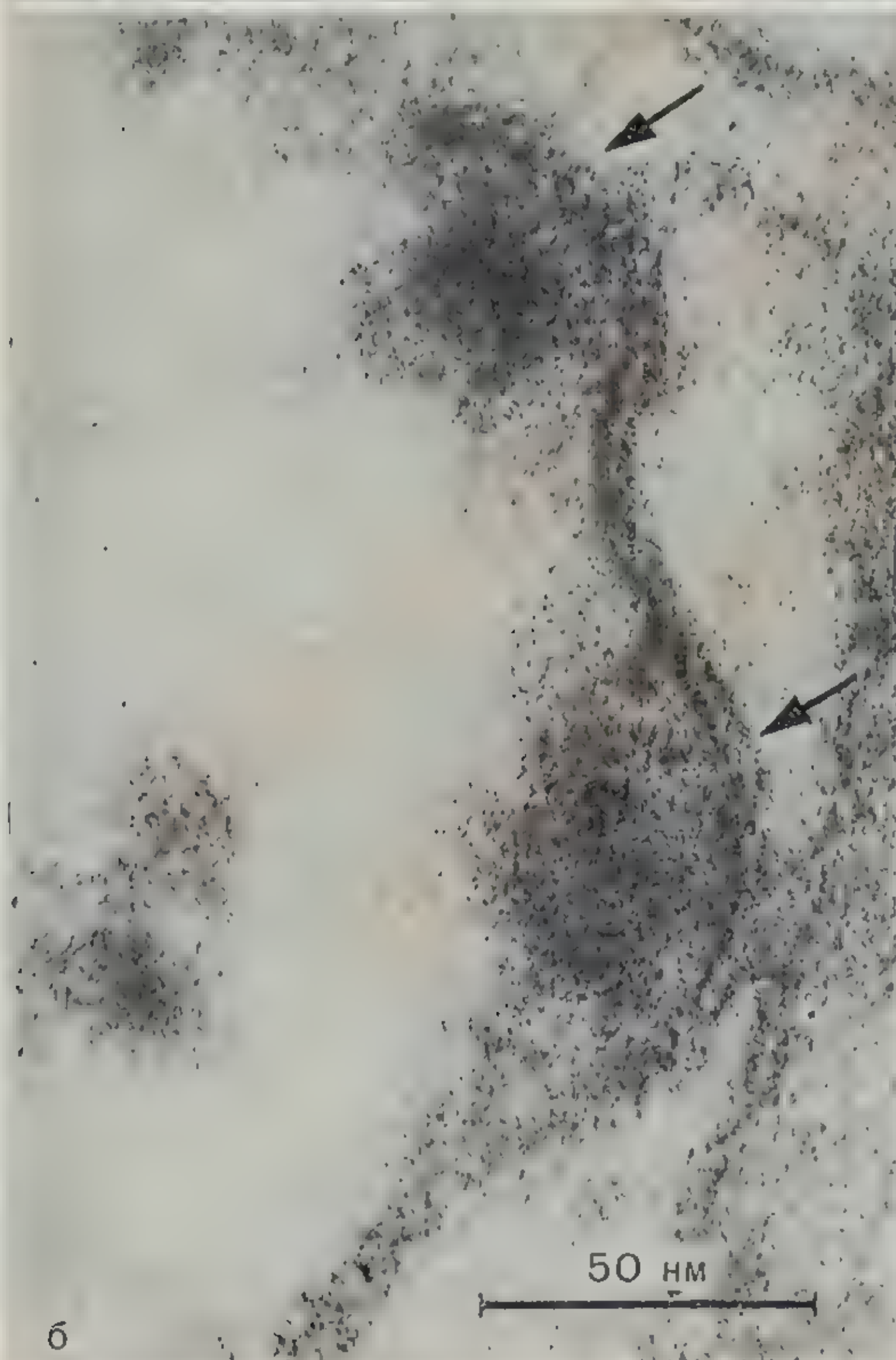
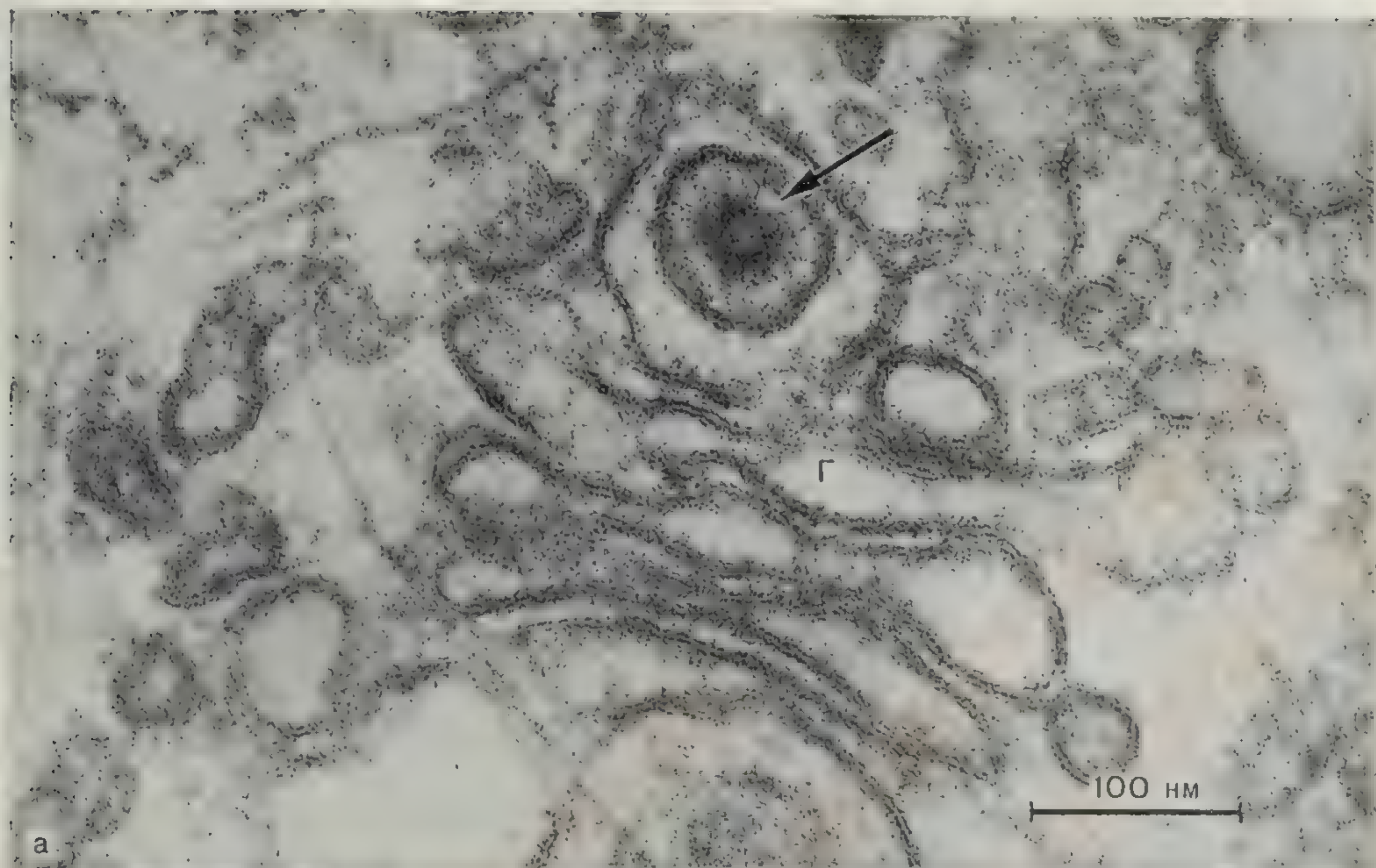
97. Этапы морфогенеза спумавирусов.

а — формирование сердцевин (Сц) пенящего вируса обезьян; б — сформированные вирионы локализуются внутри полости цистерны ГЭР; в—д — формирование вирионов на клеточной поверхности, е — внеклеточные зрелые вирионы. Ув. 300 000. ОВ — оболочка вируса; От — отростки; КСц — капсула сердцевин; ПВ — нуклеонид вируса.



98. Структура и морфогенез R-вируса хомяков.

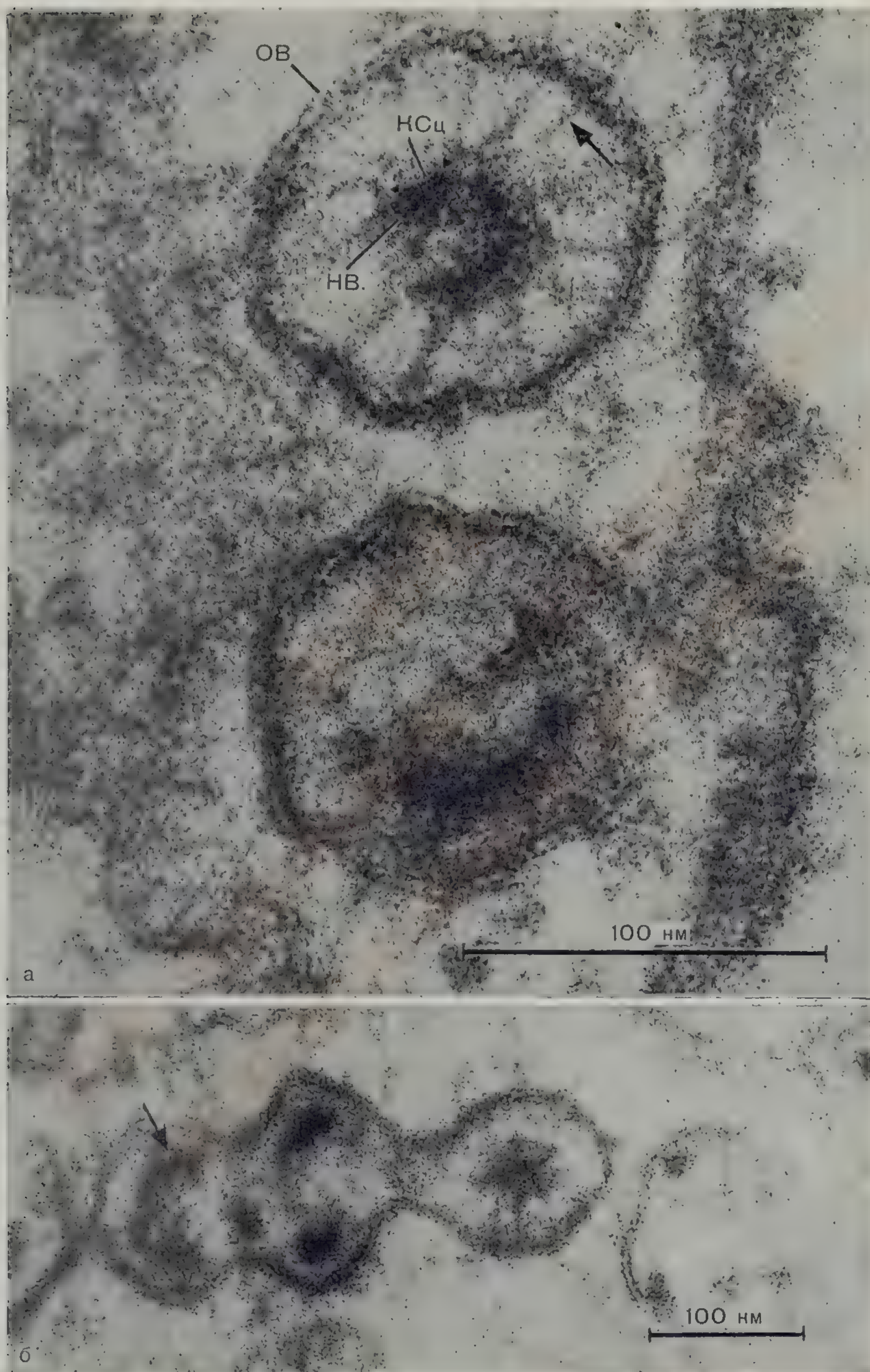
а — локализация вируса в вакуоле аппарата Гольджи (Г); б — формирование сердцевин (показаны стрелками) вируса; в — сформированный R-вирус. а — ув. 250 000; б, в — ув. 600 000.



99. Структура обычного и аномальных вирионов R-вируса.

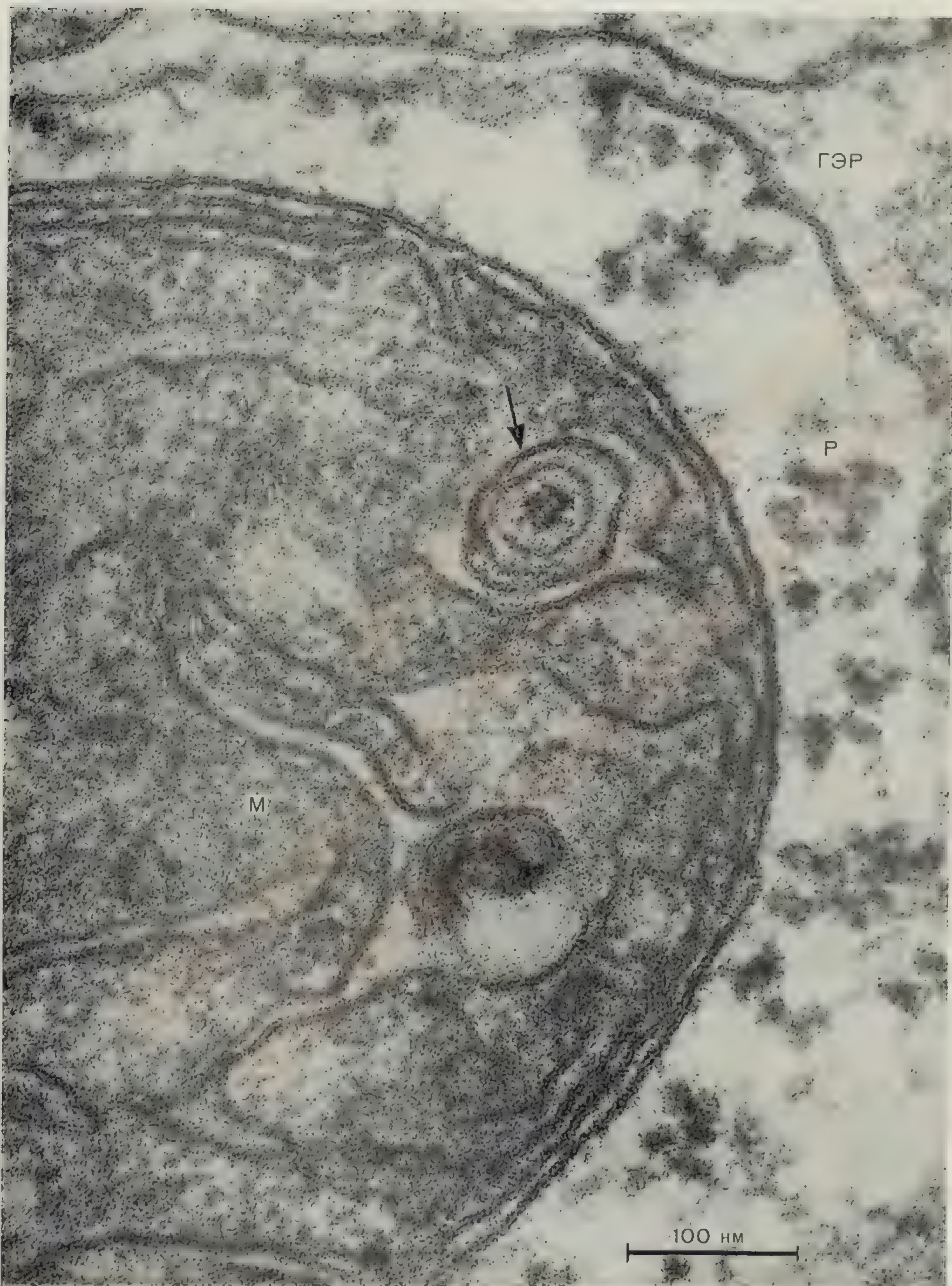
а — вверху обычный вирион, внизу вирион с аномальной сердцевинкой; ОВ — оболочка вириона;

КСц — капсула сердцевинки; НВ — нуклеонд. Стрелкой указаны радиальные тяжи, отходящие от сердцевинки. Ув. 600 000; б — аномальная форма, состоящая из сердцевинки R-вируса (справа) и сердцевинки онковируса (указана стрелкой). Ув. 300 000.



100. Ультраструктура частицы (указана стрелкой),
сходной с R-вирусом хомяка в митохондрии (М)
клетки ХРО. Ув. 300 000.

ГЭР — гранулярный эндоплазматический
ретикулум; Р — рибосома.



структурной организации нуклеондов этих вирусов и формирование полинуклеондных вирионов.

Р-вирусы широко распространены в популяции золотистых хомячков; отдельные авторы связывают эти вирусы с этиологией некоторых опухолей золотистых хомячков [Mayo et al., 1973]. Впервые эти вирусы описали Bernhard и Tournier в 1964 г. Р-вирусы содержат 60—70S РНК с молекулярной массой $10 \cdot 10^6$ и обратную транскриптазу [Birxmaier et al., 1973]; плавучая плотность вирионов составляет 1,12—1,14 г/см³.

Вирионы локализуются в цистернах эндоплазматического ретикулума делящихся и интерфазных клеток, а также в перинуклеарной зоне и внутри вакуолей Гольджи (рис. 98). Р-вирусы имеют округлую форму, диаметр вирионов 95—110 нм; они покрыты двухконтурной оболочкой толщиной 6—8 нм. В центре вириона локализуется сферическая сердцевина диаметром 35—40 нм, от поверхности которой к

внутренней мембране оболочки вируса отходят радиальные тяжи длиной 20—25 нм. Вирусные нуклеонды формируются непосредственно у мембран эндоплазматического ретикулума. Морфогенез Р-вирусов детально изучен Thomas и соавт. (1967). Обнаружены различные аномальные формы этих вирусов (рис. 99, 100), в частности, полинуклеондные вирионы, содержащие до 10 нуклеондов, а также морфологические гибридные формы, включающие компоненты цистернавирuсов типа А и Р-вирусов (см. рис. 99, б). Детально подобные формы были описаны Yotsuyanagi (1977).

Есть одно сообщение об обнаружении вирусных частиц Р-типа в первичной клеточной культуре, изолированной от больного менингиомой мозга [Hollinshead et al., 1976]. Ретровирусы локализовались исключительно в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума в большом числе клеток культуры ткани человека.

IX. АНОМАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ОНКОГЕННЫХ РНК-ГЕНОМНЫХ ВИРУСОВ

Аномальные формы обнаружены у всех инфекционных и онкогенных вирусов человека и животных [Быковский А. Ф., 1965; Авакян А. А., Быковский А. Ф., 1970]. Аномальные формы образуются либо в процессе обычного внутриклеточного цикла развития вируса, либо (наиболее часто) под действием различных физических, химических и биологических факторов (смешанной инфекции; непермиссивной температуры культивирования; образования гетерокарионов; действия интерферона, некоторых токсинов, цитолитических Т-лимфоцитов и т. д.). Целесообразно выделить следующие основные формы аномалий вирусов: 1) аномалии величины, формы и внутренней организации внеклеточных вирионов; 2) нарушение дифференцировки провириона и отдельных его компонентов в процессе морфогенеза; 3) формирование поли(олиго)нуклеондных гомологичных вирионов; 4) включение компонентов клетки (микротрубочек, рибосом, вакуолей, актина и т. п.) в состав вириона; 5) включение вируса или отдельных его компонентов в другой гомо- или гетерологичный вирус.

Одним из примеров изменения величины и субмикроскопической организации онковирусов являются так называемые минимальные формы онкогенных РНК-геномных вирусов, которые, повторяя общий план организации обычных онковирусов, отличаются от них значительно меньшей величиной.

Минимальные формы (МиФ) онковирусов типа А и С впервые были обнаружены в 1975 г. (Быковский А. Ф., Клицунова Н. В.). В последующем были описаны МиФ онковирусов типа D и внутриклеточные циклы их развития [Быковский А. Ф. и др., 1976, 1977; Быковский А. Ф., 1977].

На рис. 101 схематически изображены основные типы МиФ онковирусов. В настоящее время обнаружены следующие типы МиФ: 1) внеклеточные МиФ типа А(С); 2) внеклеточные МиФ А(D); 3) внеклеточные МиФ типа А'(С); 4) внеклеточные МиФ типа А'(D); 5) внекле-

точные МиФ типа С; 6) внеклеточные МиФ типа С'; 7) внеклеточные МиФ типа D; 8) внутрицистернальные МиФ типа А'; 9) внутрицистернальные МиФ типа С'. МиФ типов А, А', С и С' локализуются внеклеточно, внутри цитоплазматических вакуолей, фагосом и лизосом; в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума обнаружены только МиФ типов А' и С'.

При электронно-микроскопическом анализе пиков радиоактивности после повторного ультрацентрифугирования в градиентах сахарозы было обнаружено, что минимальные формы онкорнавирусов в культуре КЛЧКМ (клетки легкого эмбриона человека, спонтанно контаминированные клетками мыши) в основном локализуются в зоне с плотностью 1,135 г/мл. В частицах показано наличие обратной транскриптазы, gs-1 антигена мышинных лейкозных вирусов, 35S РНК и 4—9S РНК [Ершов Ф. И., Быковский А. Ф., 1976; Зайцева О. В. и др., 1976; Соловьев В. Д. и др., 1977].

35S РНК не всегда обнаруживается в составе МиФ онкорнавирусов. Это можно объяснить либо низкой концентрацией вируса в препаратах, либо различиями в составе внеклеточной популяции вируса исследуемых клеточных систем.

МиФ типа С имеют сферическую форму (см. рис. 101—103), их величина колеблется от 30 до 60 нм. Сердцевины локализуются либо в центре частицы, либо эксцентрично; они имеют вид электронно-оптически плотных образований диаметром 15—30 нм.

МиФ типа С' (рис. 104) характеризуются меньшей величиной (30—40 нм) и тем, что сердцевина занимает весь объем частицы. При негативном контрастировании (рис. 105, 106) в толще сердцевины выявляются тяжи толщиной 2—4 нм, которые особенно хорошо выявляются при деструкции частиц.

Размеры МиФ типа А (рис. 107) составляют 50—70 нм, диаметр сердцевины 30—40 нм. Сердцевина имеет вид сферы или

фрагмента сферы толщиной 10—12 нм. При негативном контрастировании (рис. 108—109) в структуре нуклеондов типа А выявляются тяжи диаметром 2 нм, состоящие, по-видимому, из нитей толщиной 0,6—0,7 нм. Такие же структуры были описаны выше и в нуклеондах обычных онковирусов типов А, С и D. Величина наименьших из МиФ онковирусов типа А не превышает 30 нм. Такие же размеры (25—35 нм) имеют и МиФ онковирусов типа А', в которых сферический нуклеонд прилежит вплотную к внутренней мембране оболочки (рис. 110). Толщина сферы сердцевинки этих частиц составляет 6—8 нм.

В последние годы были обнаружены минимальные формы в популяции онковирусов типа D.

Обнаружено два основных способа формирования МиФ онковирусов: при почковании на поверхности клетки, в цистерны внутриклеточных вакуолей и эндоплазматического ретикулума и при фрагментации внеклеточных обычных форм онковирусов типов А, С и D.

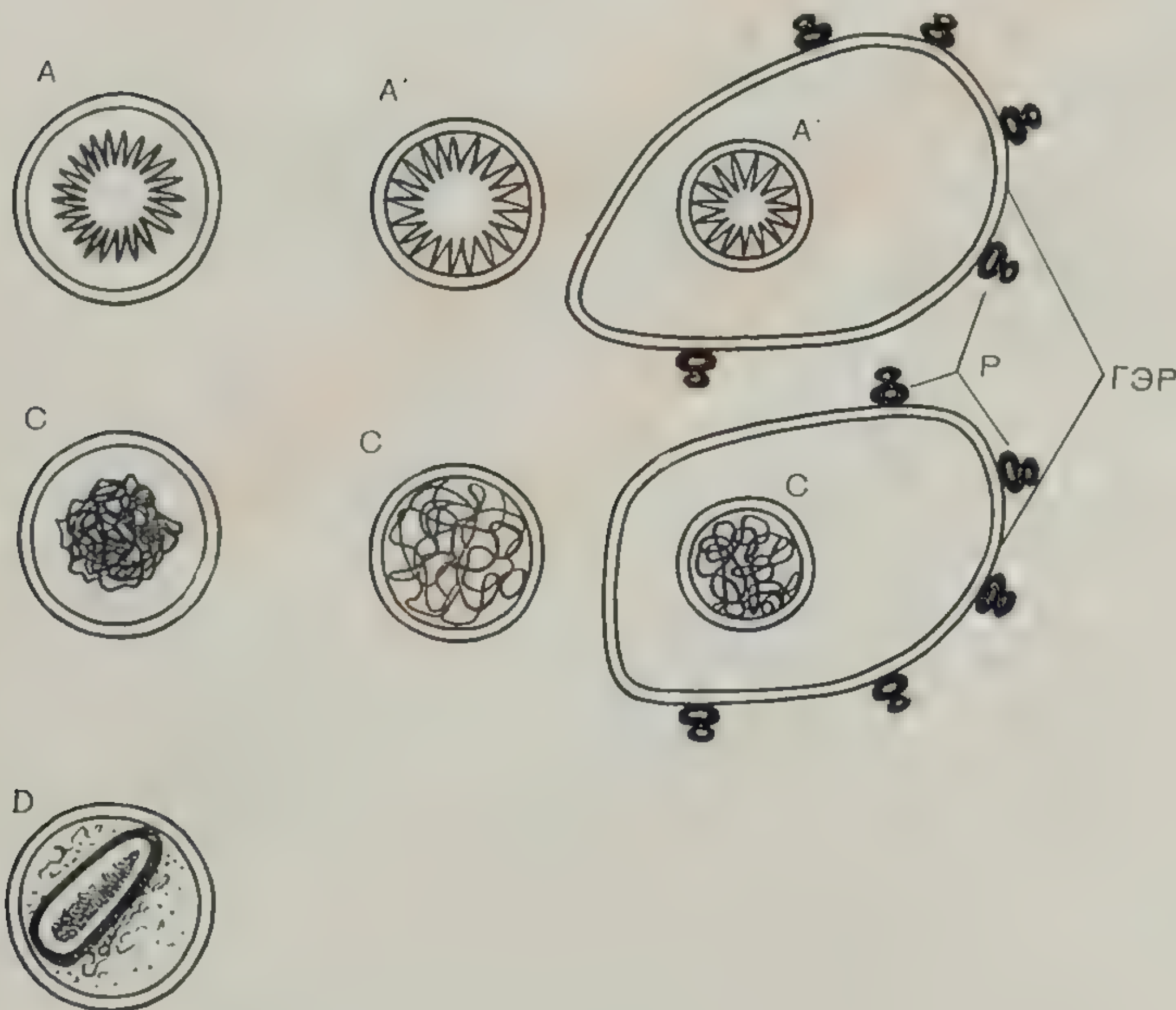
На рис. 111 схематически представлено формирование МиФ онковирусов типов А, А', С и С' при почковании через плазматическую оболочку клетки (рис. 112). Иногда МиФ почкуются в тех же участках плазмалеммы, где идет образование обычных форм онковирусов типа А(С). В клетках, продуцирующих MMTV, удается обнаружить почкование преобразованных сферических нуклеондов типа А диаметром около 25 нм с толщиной сферы 8 нм

(рис. 113). В клеточных системах с продукцией онковирусов типа С МиФ типа А почкуются непосредственно на поверхности клетки либо на концах клеточных отростков. При отделении МиФ от поверхности клетки в состав частицы могут входить не сферические сердцевинки, а лишь их фрагменты. Обнаружено почкование сферических сердцевинки МиФ типа С (рис. 114); диаметр наименьших из них достигает в ультратонких срезах 20—25 нм, т. е. они чуть больше клеточных рибосом, однако и в них выявляется промежуточный слой.

Наибольший интерес, по нашему мнению, представляет формирование МиФ онковирусов в процессе фрагментации обычных внеклеточных онковирусов (рис. 115—120).

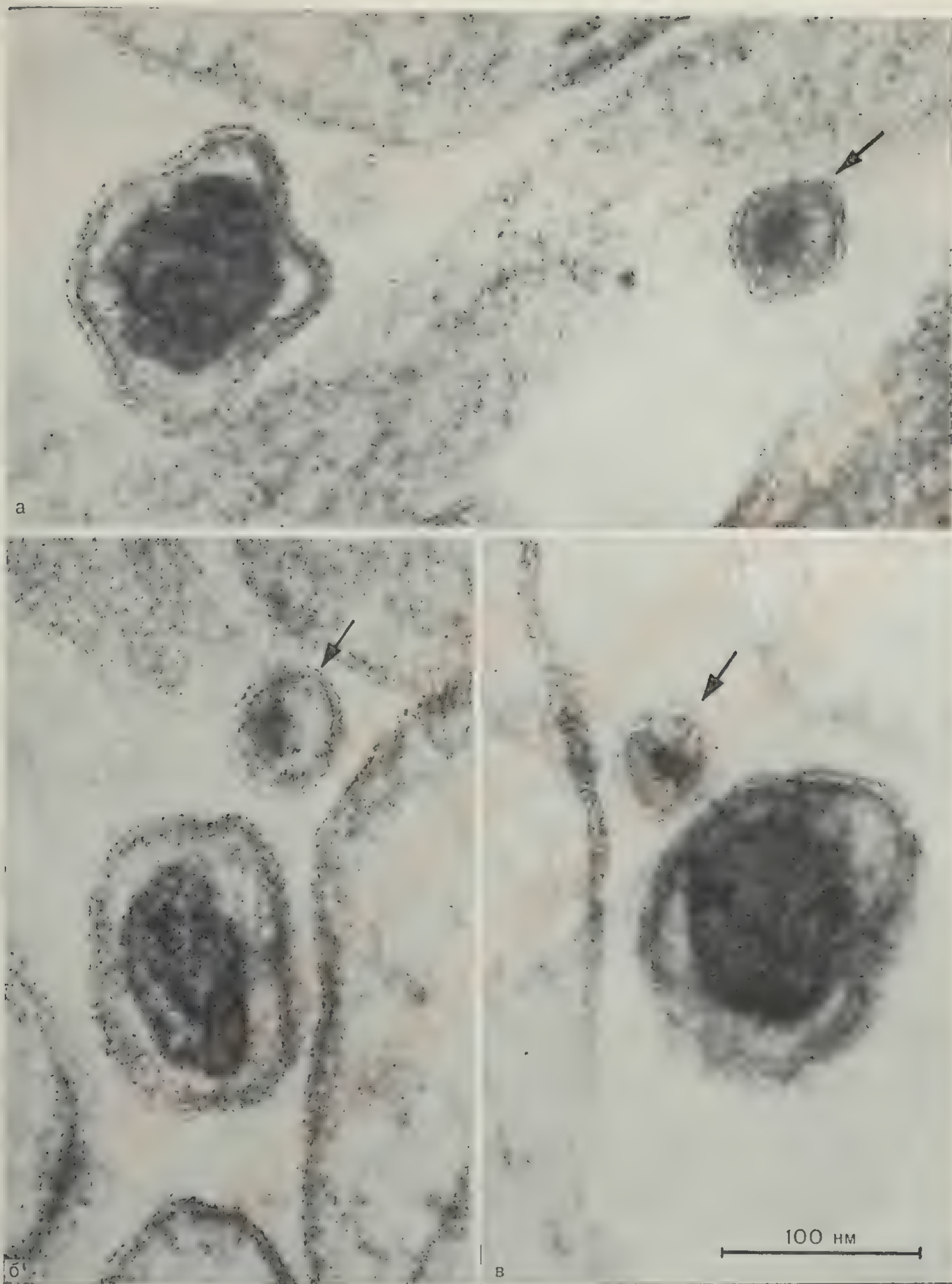
Фрагментацию обычных онковирусов типа А, С и D наблюдали в фагосомо-лизосомальном аппарате клетки (рис. 121), в частности, этот процесс развивается в опухолевых вируспродуцирующих клетках-мишенях уже через 30—60 мин после действия на них специфических цитолитических Т-лимфоцитов.

В заключение необходимо отметить, что мелкие частицы диаметром 25—40 нм неоднократно наблюдали в клетках, инфицированных вирусами группы герпеса [Moses et al., 1968], в клетках опухоли мочевого пузыря человека [Elliot et al., 1974], опухоли предстательной железы человека [Tannenbaum et al., 1970], в опухолях молочных желез мышей [Moore et al., 1959; Dmochowski et al., 1968; Sar-



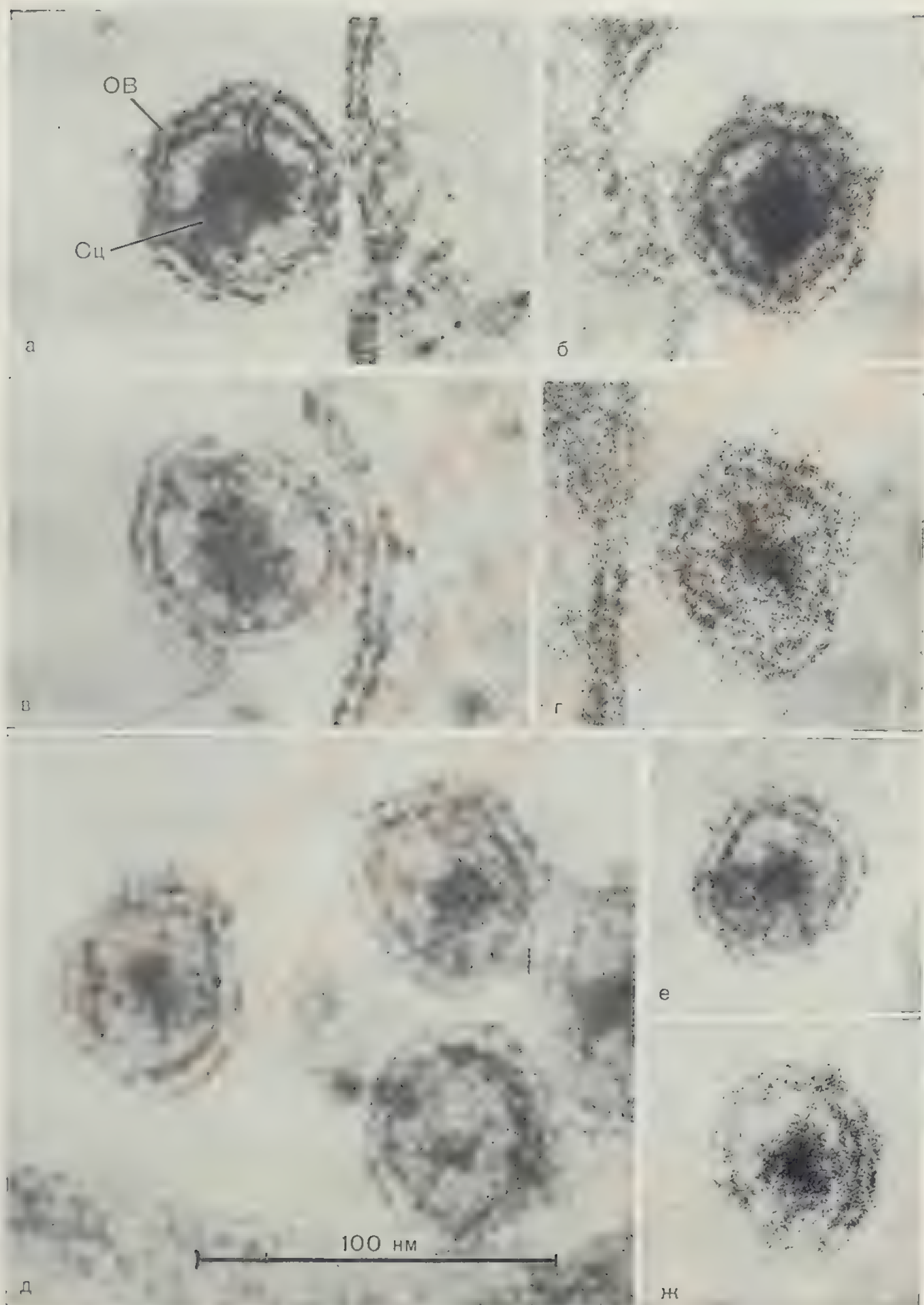
101. Морфологическая классификация минимальных форм (МиФ) онковирусов (схема).

А, А', С, С', D — различные типы МиФ, Р — рибосомы; ГЭР — гранулярный эндоплазматический ретикулум.



102. Структура МиФ онковирусов типа С в ультратонких срезах.
а—в—сравнительная величина обычных и минимальных (указано стрелками) вирионов.
Ув. 350 000.

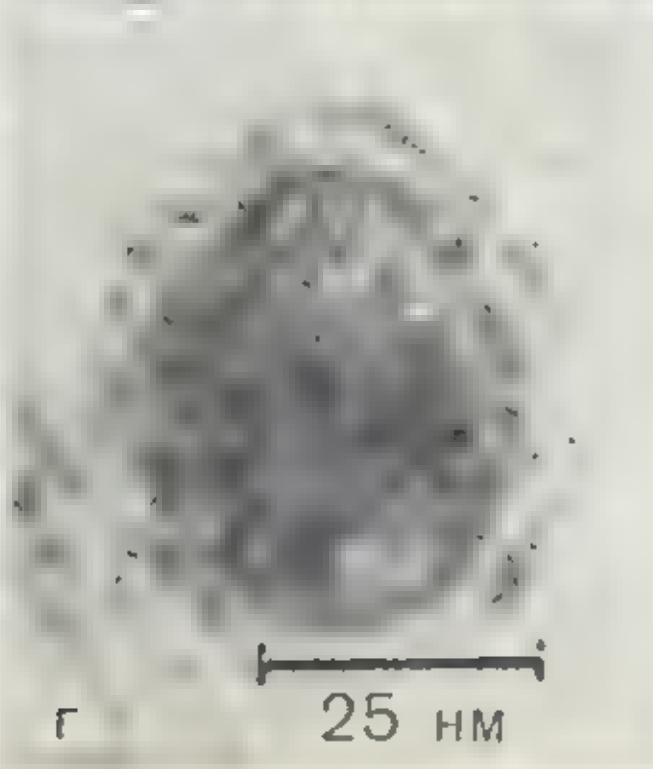
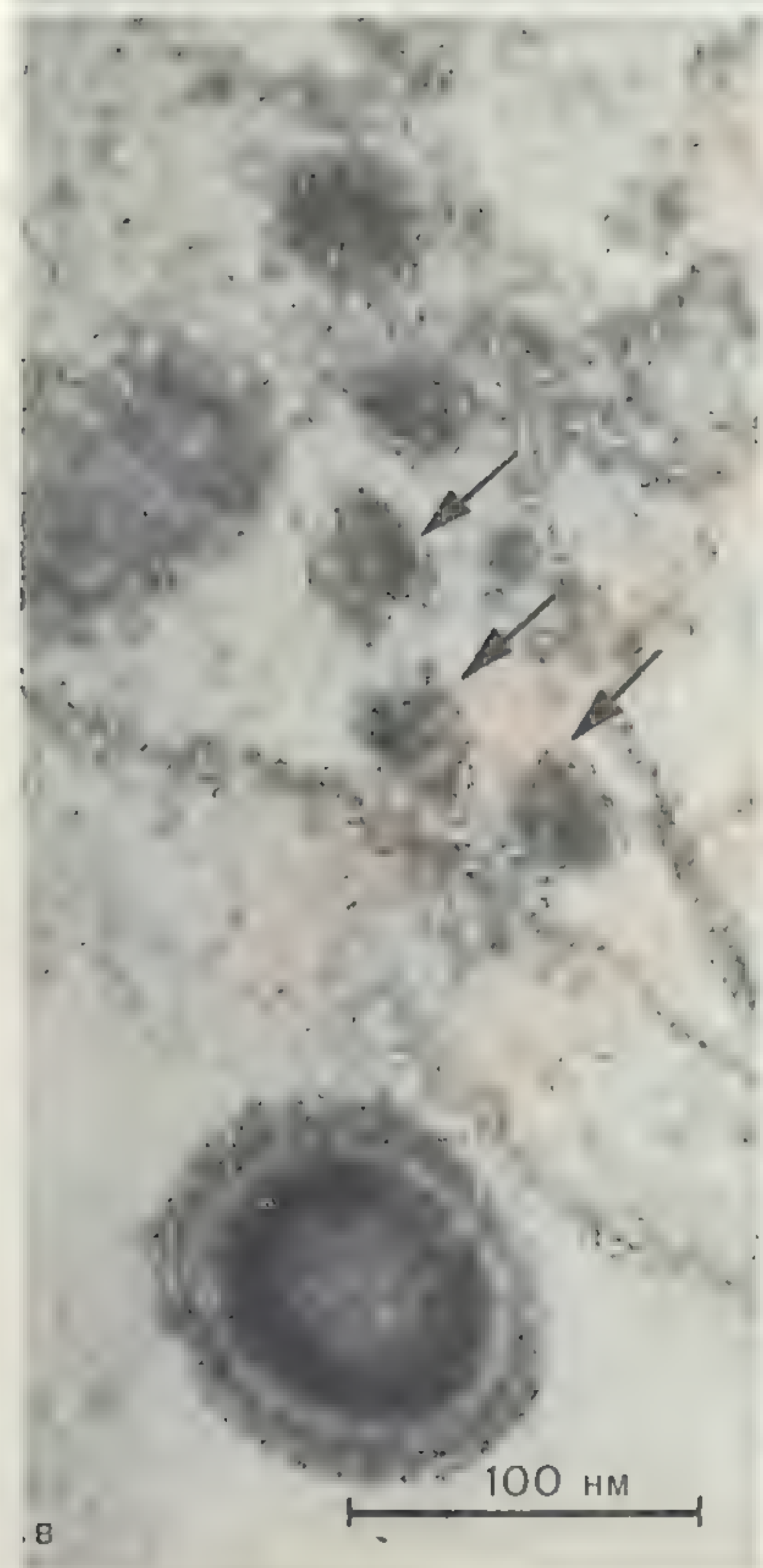
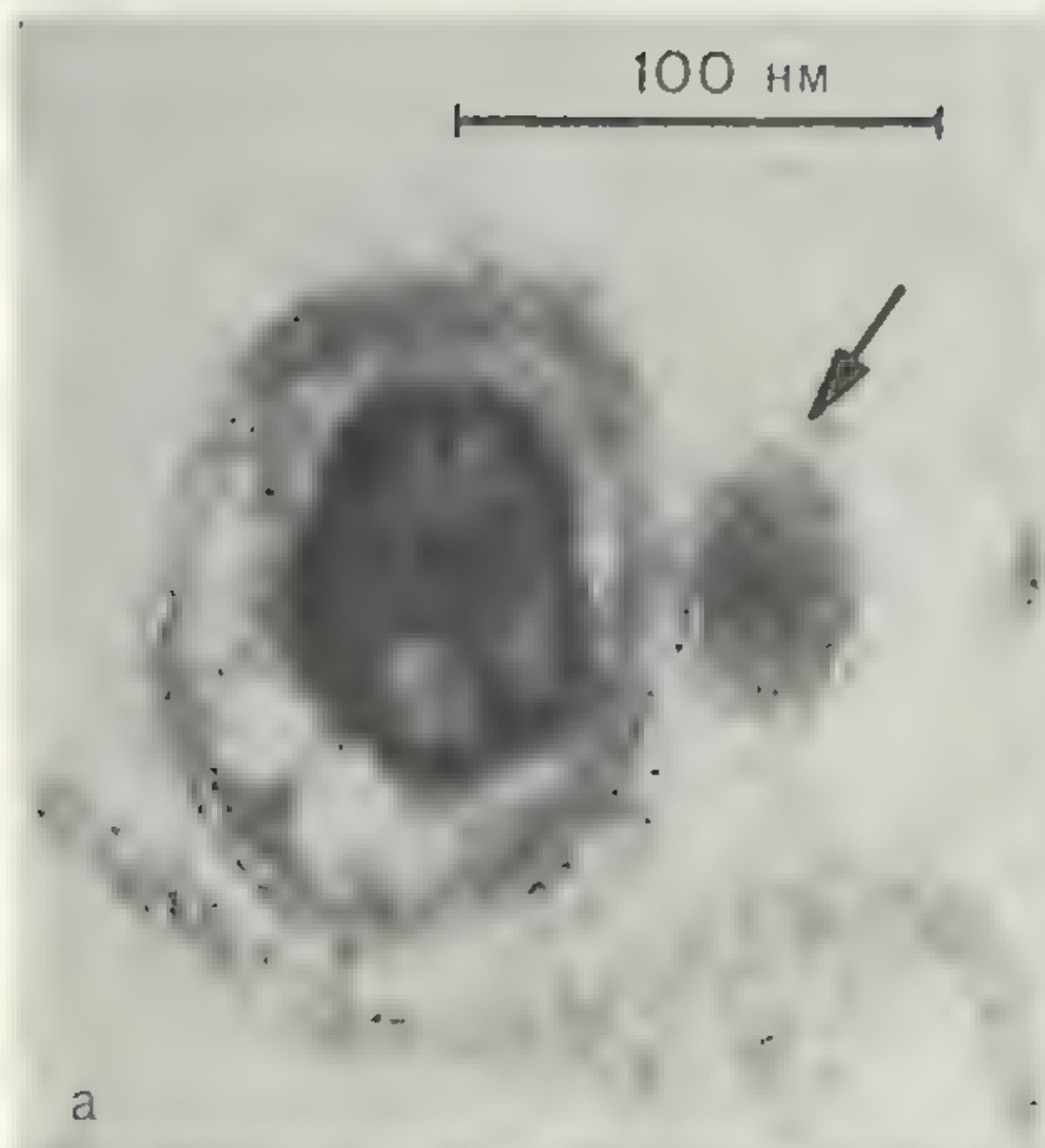
103. Структура МиФ (а—ж) онковирусов типа С,
локализованных во внеклеточном пространстве.
ОВ — оболочка вириона; Сц — сердцевина.
Ув. 600 000.



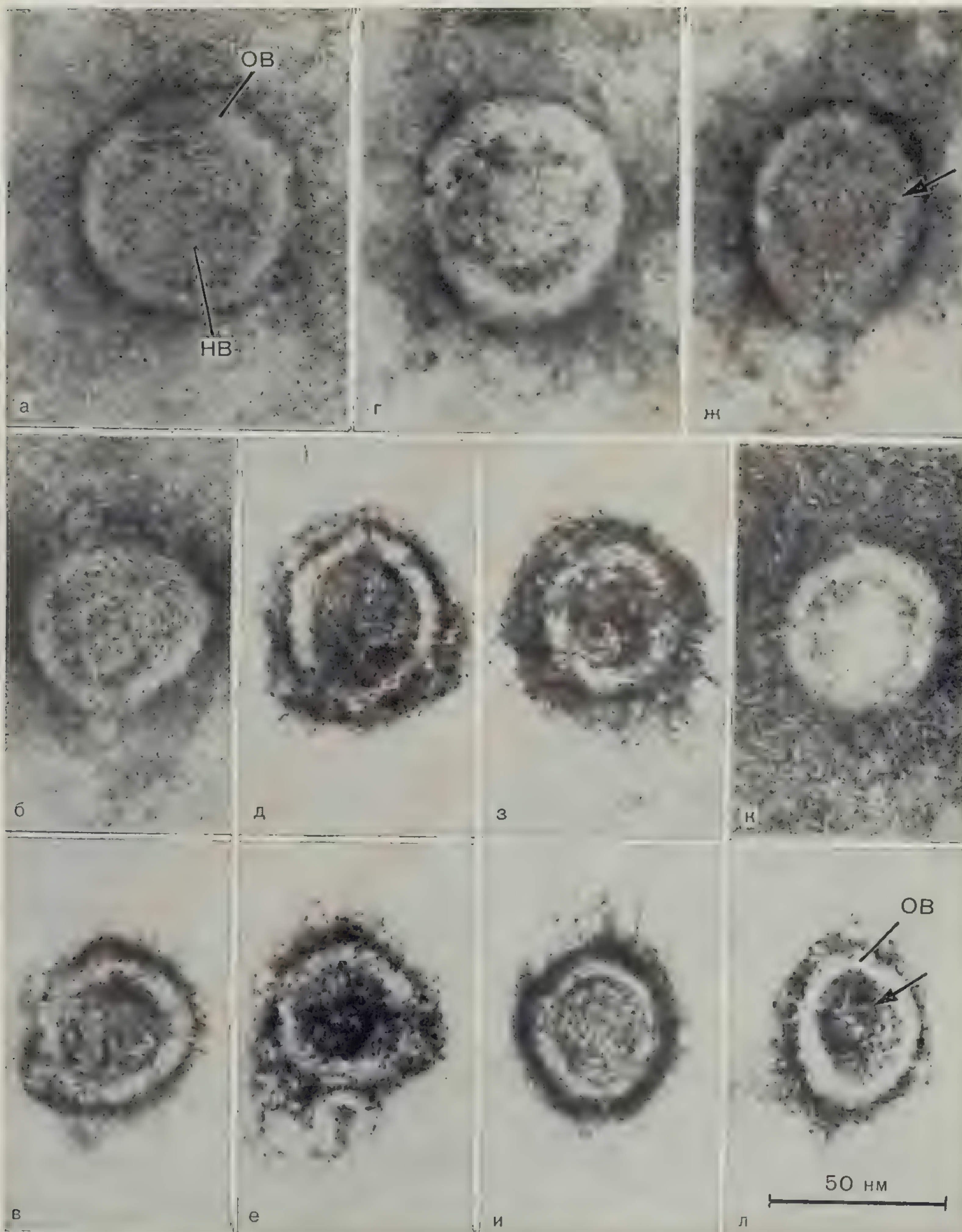
104. Структура МиФ онковирусов типа С'.

Ультратонкие срезы.

а, б — образование МиФ типа С' путем фрагментации от вирионов типов С и А (указано стрелкой) обычной величины; в — МиФ типа С' (указано стрелкой) в межклеточном пространстве; г—е—полиморфизм МиФ типа С'.
а—в—ув. 300 000; г—е—ув. 600 000.

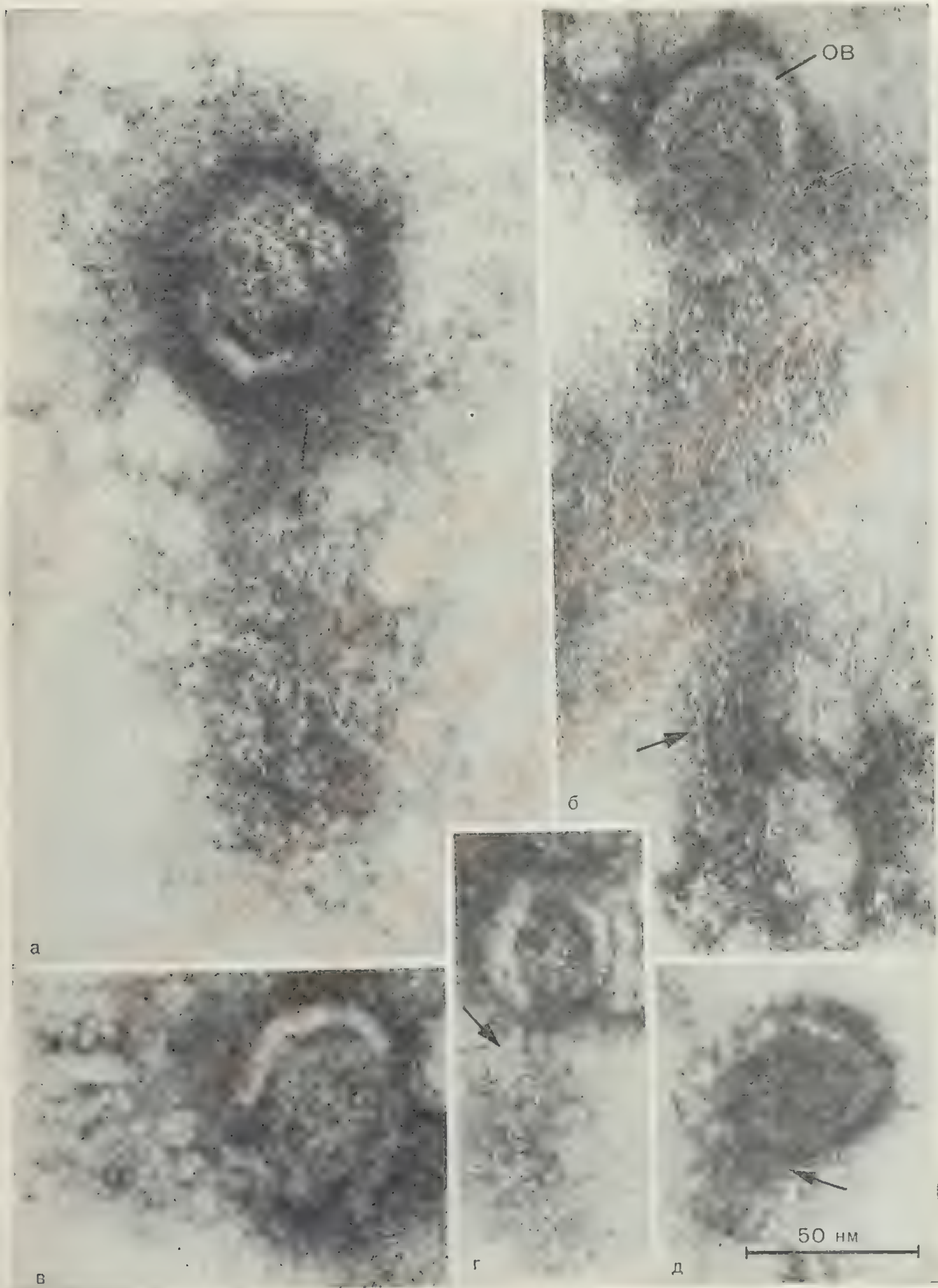


105. Структура МиФ онковирусов типа С и С' в негативно окрашенных препаратах. Демонстрируется различная величина фрагментов нуклеоида внутри вирионов. а — вирион МиФ типа С. Видна внутренняя структура нуклеоида. ОВ — оболочка вириона; НВ — нуклеонид; б—л—МиФ типа С и С' с различной величиной фрагментов нуклеоида (указано стрелками). Ув. 600 000.



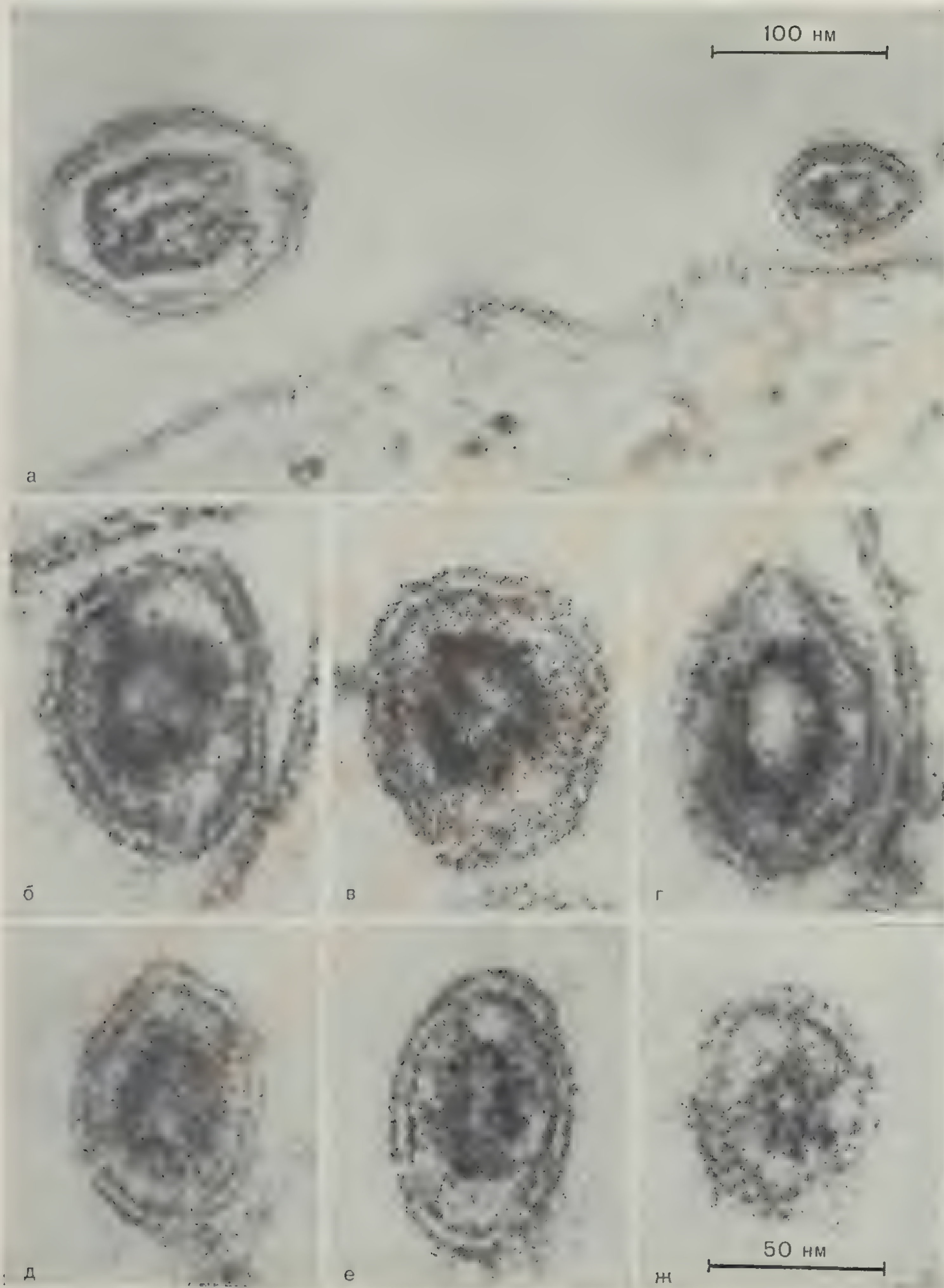
106. Структура МиФ онковирусое типа С и С' (негативное контрастирование).

а—д—тяжи РИП (указаны стрелками), освобождаемые при частичном нарушении целостности вириона. Ув. 600 000.



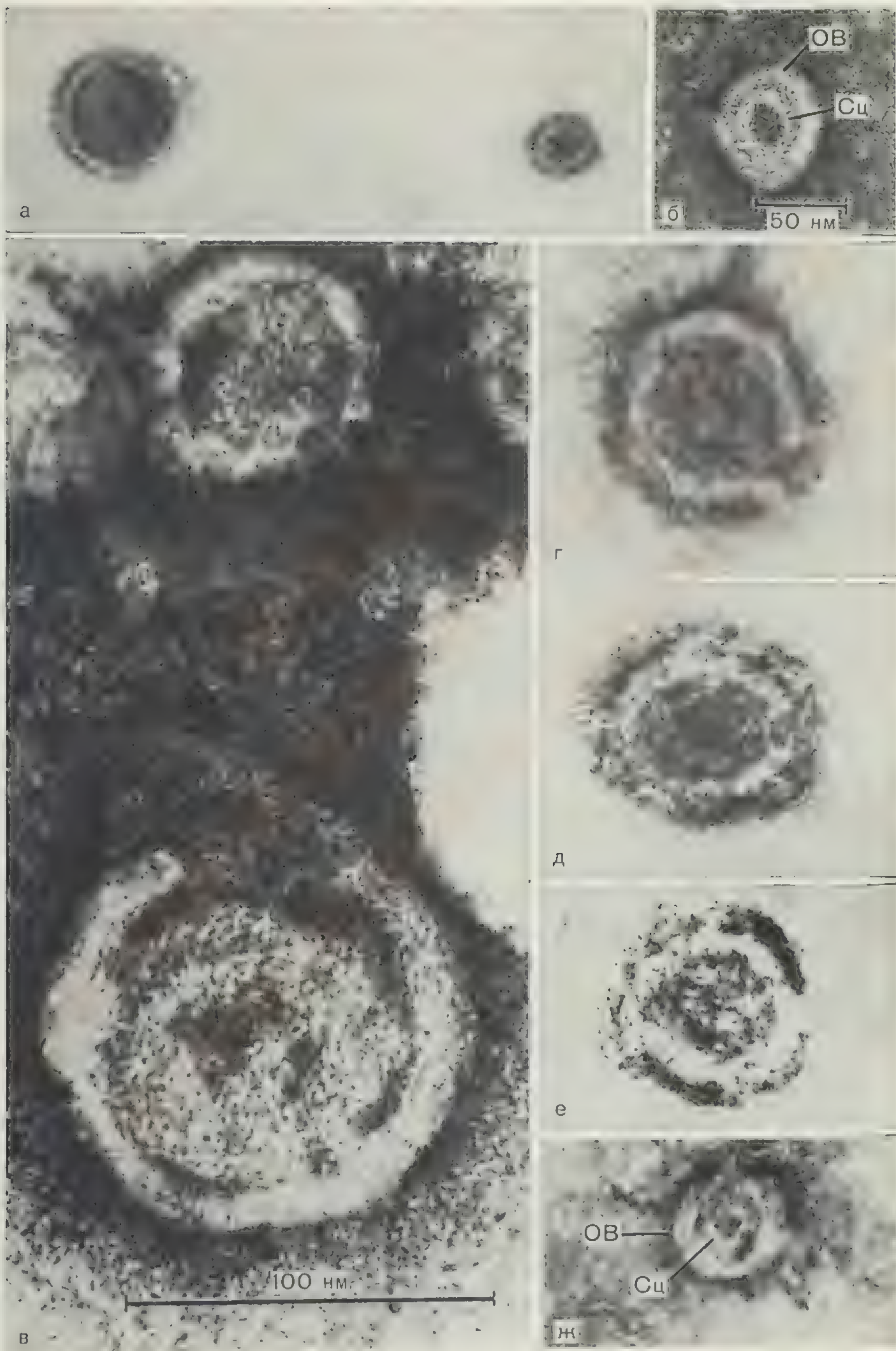
107. Структура МиФ онковирусов типа А
(ультратонкие срезы).

а — сравнимая величина обычного онковируса
и МиФ типа А (справа). Ув. 300 000; б—г—вирионы
типа А, содержащие полный нуклеонд; д—ж—
МиФ типа А, содержащие фрагменты нуклеоида,
Ув. 600 000.



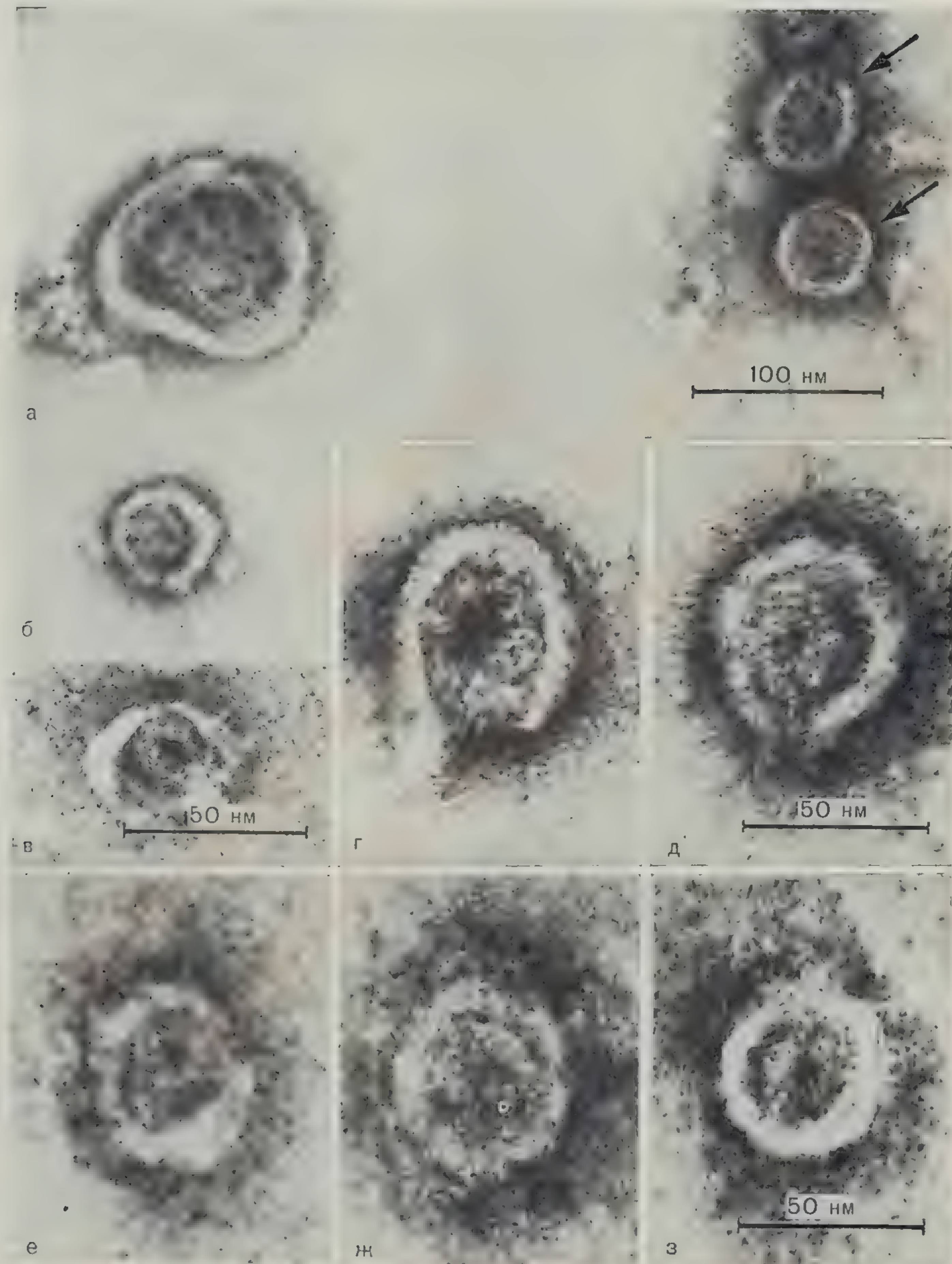
108. Структура МиФ онковирусов типа А(С)
(негативное контрастирование).

а — вирион типа А(С) обычного размера (слева)
и МиФ (справа). Ув. 180 000; б — МиФ типа А.
ОВ — оболочка вириона; Сц — сердцевина.
Ув. 300 000; в—ж—МиФ типа А(С) Ув. 600 000.

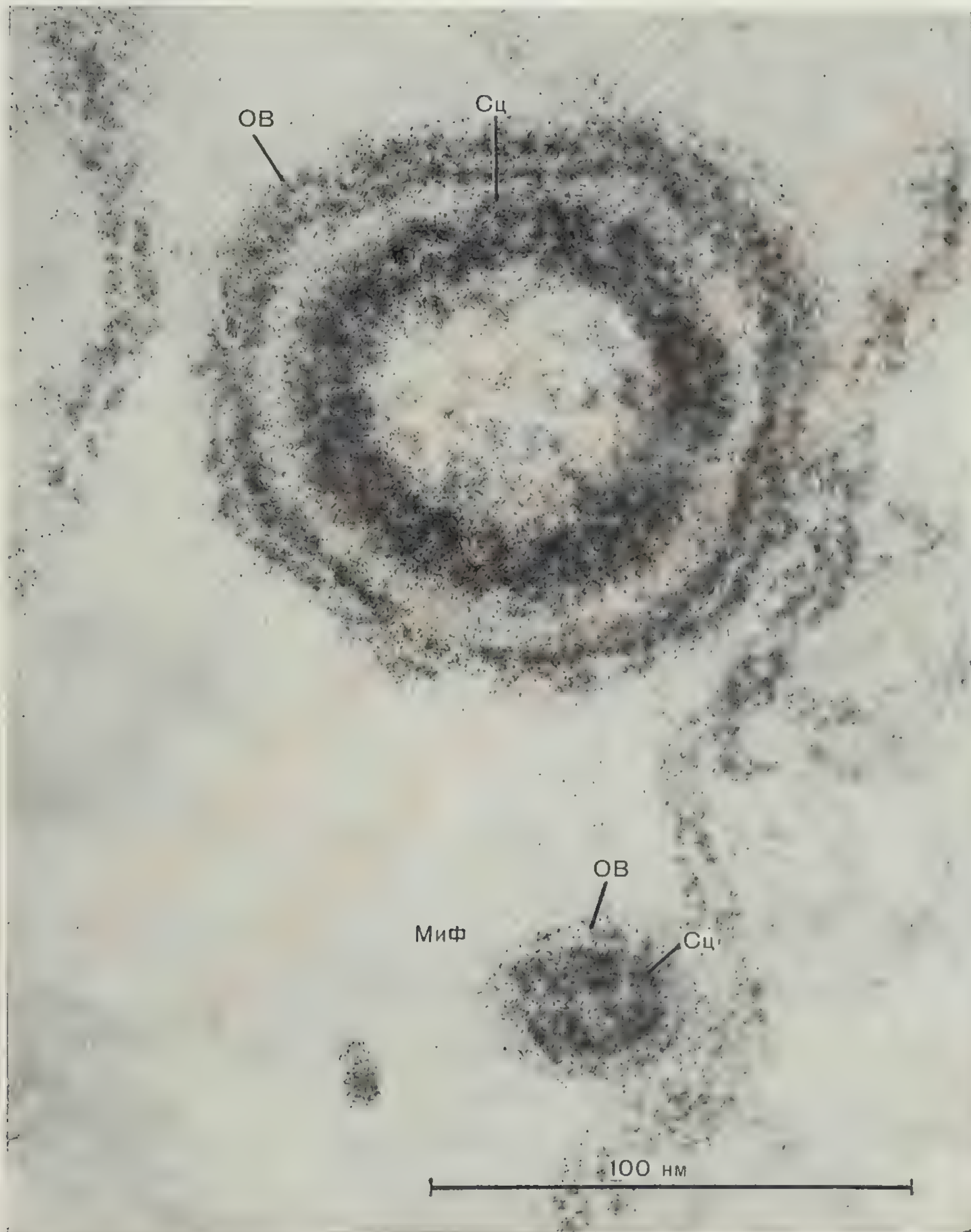


109. Структура МиФ онковирусов типа А(Д)
(негативное контрастирование).

а — сравнимая величина вириона типа D обычного
размера (слева) и двух МиФ онковирусов типа А
(Д) (справа) в популяции вируса Мезон-Пфайзера.
Ув. 300 000, б—з—МиФ онковирусов типа А (Д)
с различной конфигурацией и величиной нуклеоида.
б, в—ув. 300 000; г—з—ув. 600 000.



110. Структура МиФ онковируса типа А'.
Демонстрируется структура и сравнимая
величина нуклеоида вириона обычного размера
и МиФ. Ув. 760 000.
ОВ — оболочка вируса; Сц — сердцевина.



kar et al., 1975] и человека [Feller et al., 1967, 1968; Feller, 1971]. Однако эти авторы не изучали морфогенез маленьких частиц, не обнаружили, в частности, частиц типа А, их почкование от поверхности клеток и тем более в процессе фрагментации внеклеточных онковирусов. Большая часть описанных структур представляла собой различные внутриклеточные микровезикулы, содержимое мультивезикулярных телец, элементы дегенерирующих органоидов клетки (например, митохондрий) и т. д. Поэтому Dalton справедливо заключил, что описание маленьких частиц без обнаружения этапов их морфогенеза не позволяет считать эти образования вирусными агентами.

Таким образом, в наших работах впервые были описаны и названы минимальные формы онковирусов [Быковский А. Ф., Клицунова Н. В., 1975]; для них разработана морфологическая классификация, изучены их субмикроскопическая организация и морфогенез.

Аномалии онковирусов типа А схематически представлены на рис. 122. Наиболее обычными аномальными формами являются полинуклеондные (в основном двойные) вирионы (рис. 123). В популяции цистернавирuсов типа А часто обнаруживают вирусы с фрагментированными нуклеоидами либо цилиндрические нуклеонды (рис. 124—126). Последние формы были описаны неоднократно [Dalton et al., 1961; Dales, Howatson, 1961; Ferrer et al., 1971; Bernhard, 1973].

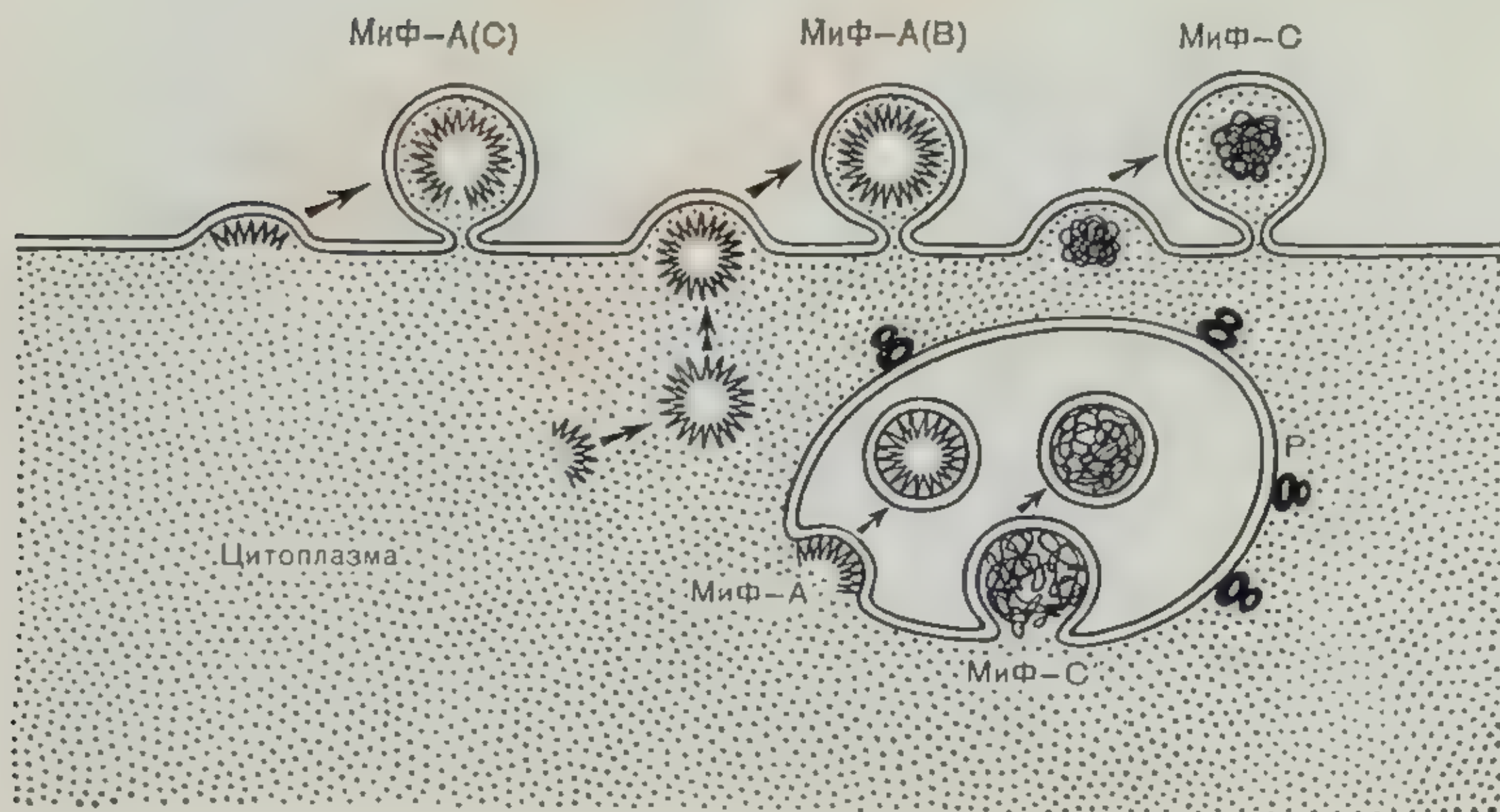
В плацентах человека и бабуина наблюдали атипичные вирусы, напоминающие по морфологии цистернавирuсы типа А мышей и морских свинок [Hall, Schidlovsky, 1976; Dirken, Levi, 1977]. В этих частицах нуклеонды типа А прилежали вплотную к оболочке вируса, однако подобные частицы почковались не в цистернах эндоплазматического ретикулума, а на

поверхности клеток и встречались внеклеточно [Kalter et al., 1973]. Предполагают, что атипичные вирусы, локализующиеся в плацентах, представляют собой один вирус, а типичные онковирусы типа С — другой. Было высказано также предположение, что на морфологию атипичных вирусов в плацентах влияют гормоны [Dalton et al., 1974].

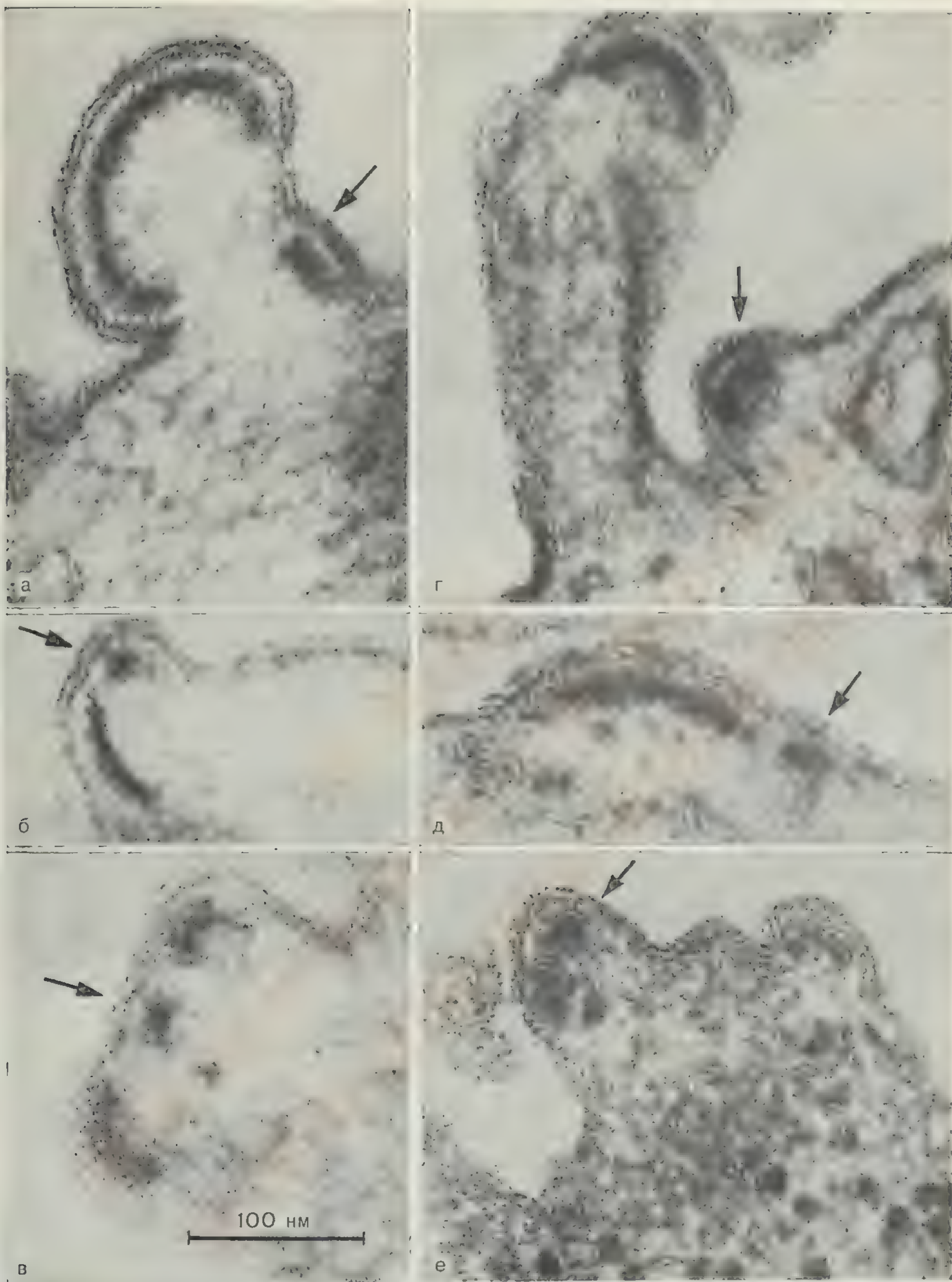
В некоторых клеточных системах цистернавирuсы локализовались вместе с диффузными или кристаллоподобными скоплениями ретикулярно-трубчатых структур (рис. 127). Последние были описаны в клетках животных и человека при различных патологических процессах, в том числе и при опухолевых заболеваниях [Jensen et al., 1971; Gyorky et al., 1971; Uzman et al., 1971; Schaff et al., 1973].

Цилиндрические сердцевинки типа А выявлены в гиалоплазме клеток НEr-2 (рис. 128, 129), они формируются в гиалоплазме либо у поверхности клетки и имеют длину до 500—1000 нм и такой же или чуть меньший (50—65 нм) диаметр, как и сферические сердцевинки типа А(В). Цилиндрические сердцевинки почкуются на клеточной поверхности, иногда на концах клеточных отростков. Они имеют прямую либо изогнутую форму и заканчиваются обычно расширением. Отдельные сердцевинки состоят из фрагментов.

В процессе почкования онковирусов типа А(С) могут формироваться гигантские полусферы (рис. 130), в несколько раз превышающие размеры обычных почкующихся онковирусов. Наиболее часто на концах клеточных отростков образуются цилиндрические формы онковирусов типа А(С) (рис. 131); во внеклеточное пространство или в полости внутриклеточных вакуолей выделяются гигантские вирионы типа А (рис. 132), цилиндрические сердцевинки которых в 8—10 раз превышают



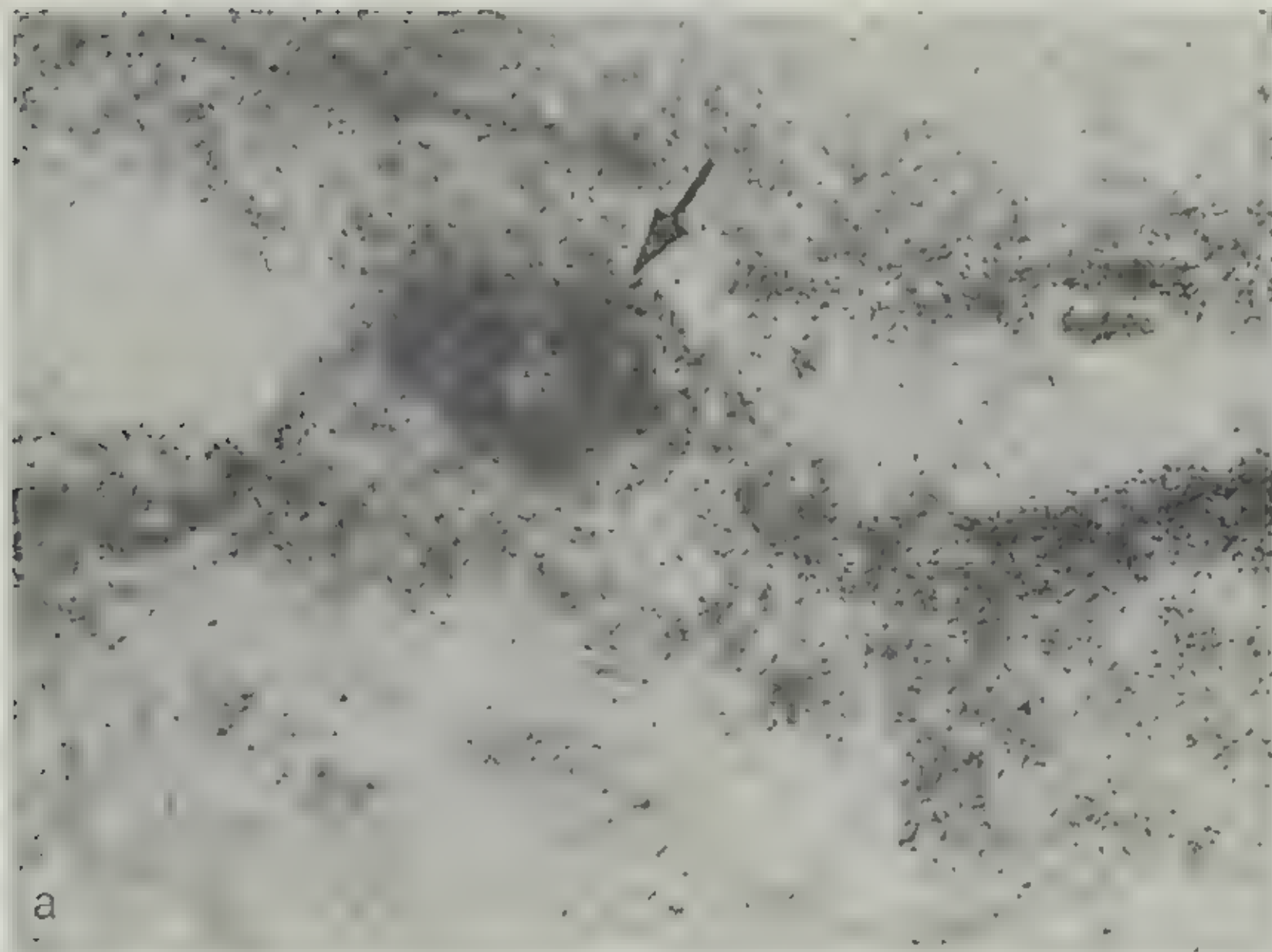
111. Формирование различных типов МиФ онковирусов в процессе почкования на поверхности клетки (схема). Р — рибосомы.



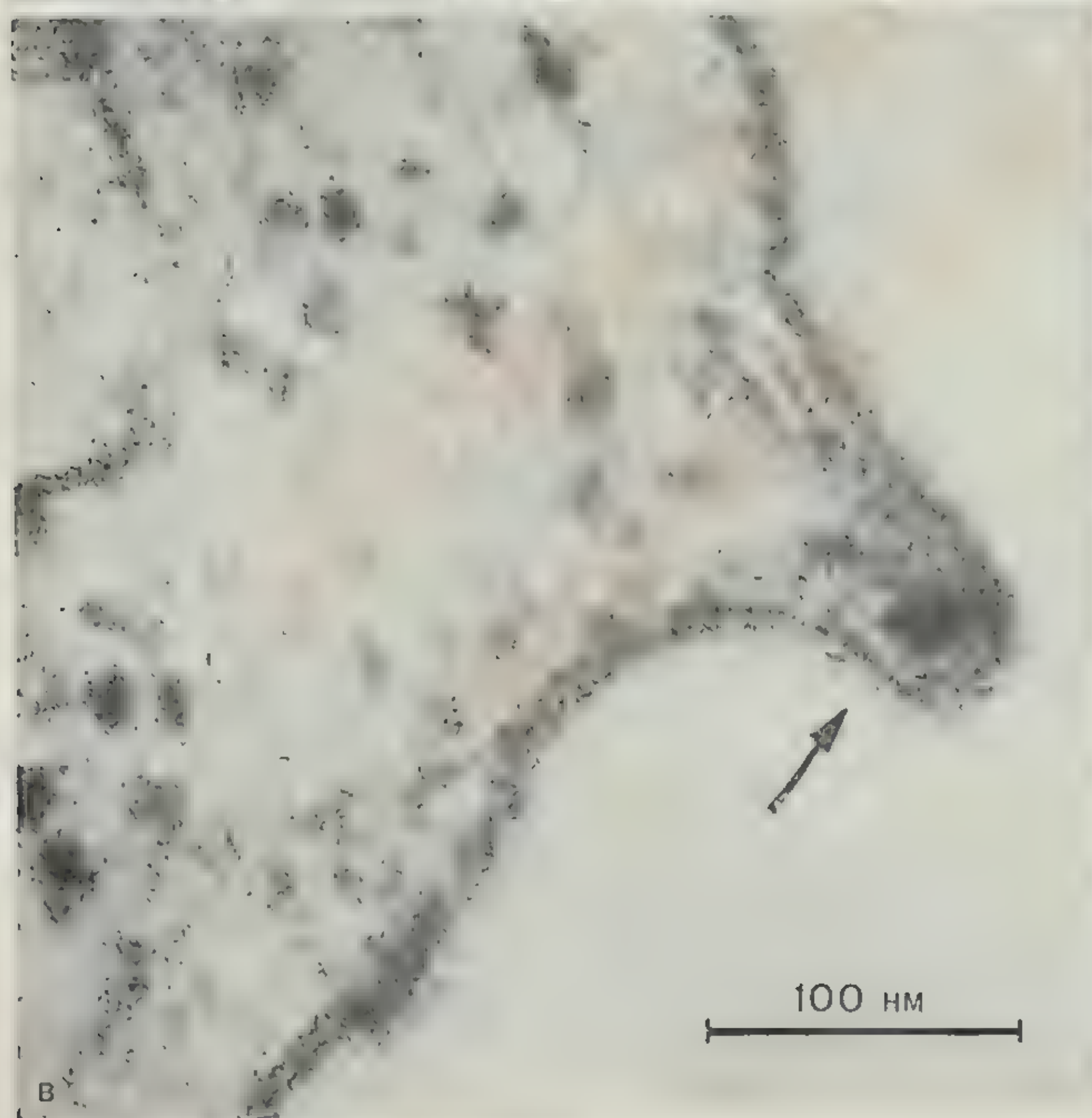
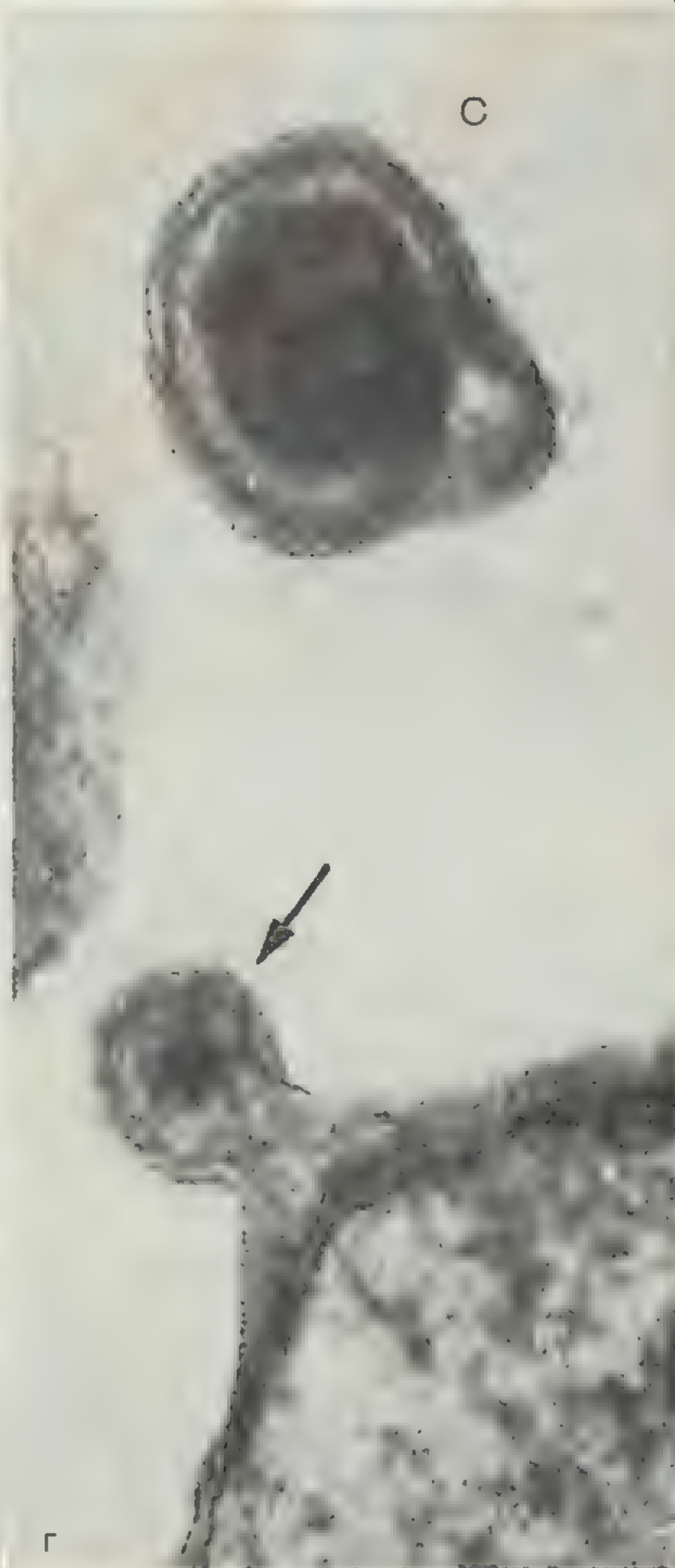
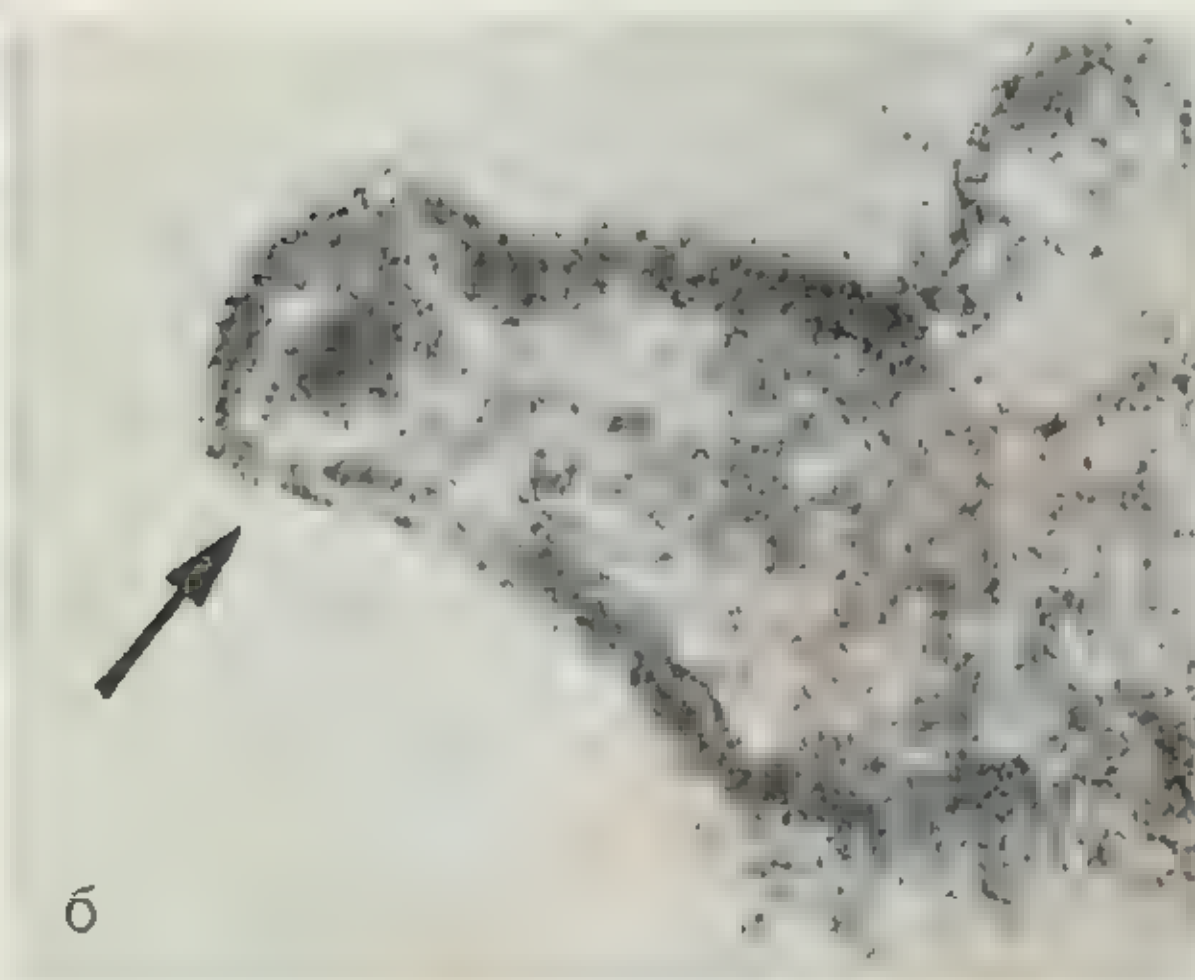
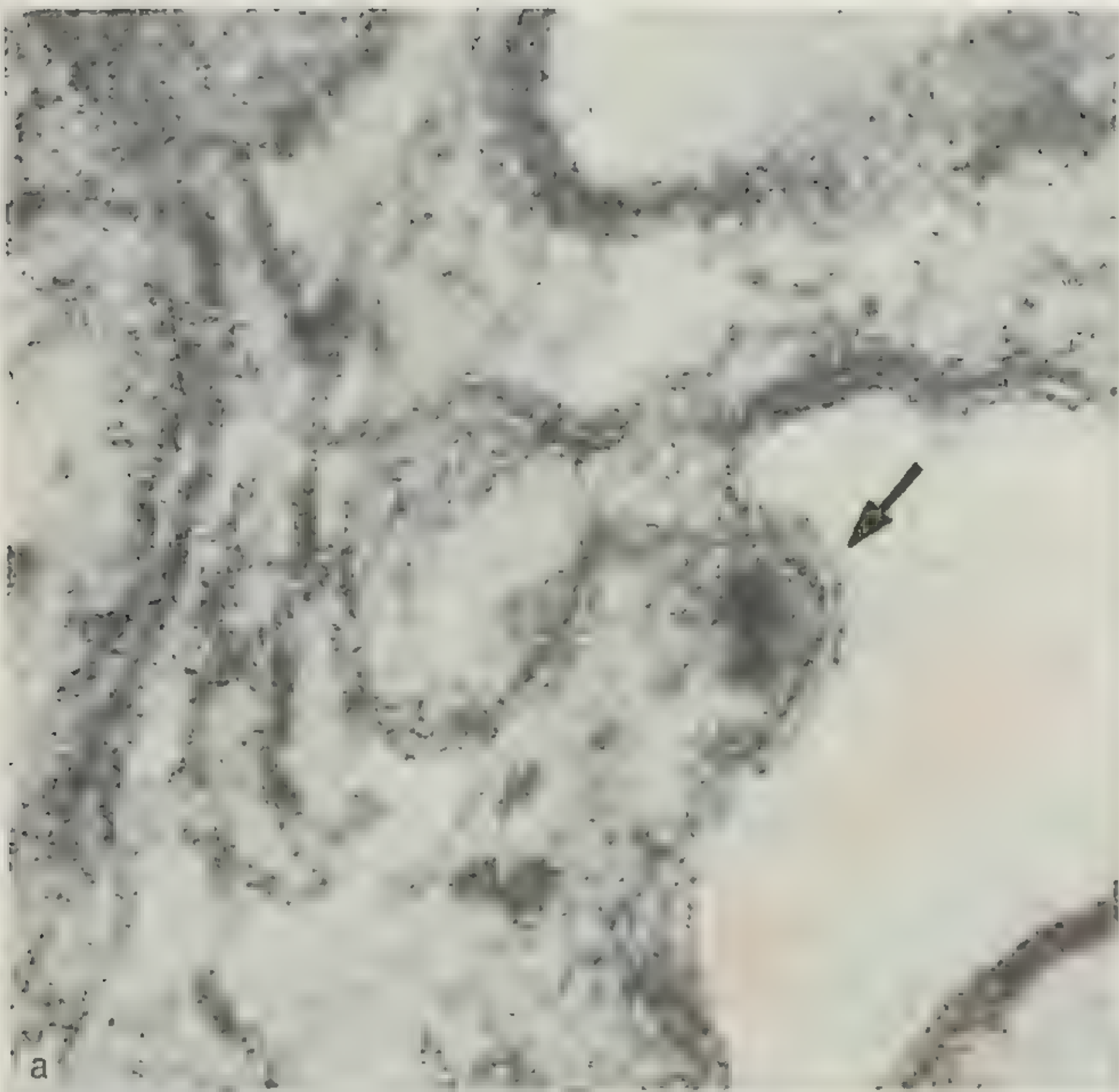
112. Варианты почкования МиФ онковирусов типа А (указано стрелками) на поверхности клетки, инфицированной онковирусом типа С.
а — почкование задержанного фрагмента при формировании нормального вириона типа А.
б, в, д, е — фрагментация и раздельное почкование фрагментов нуклеоида типа А; г — почкование МиФ типа А. Ув. 300 000.

113. Варианты почкования МиФ онковирусов типов А (В) и А (С) на поверхности клеток, инфицированных онковирусами типа В (а) и С (б—д).

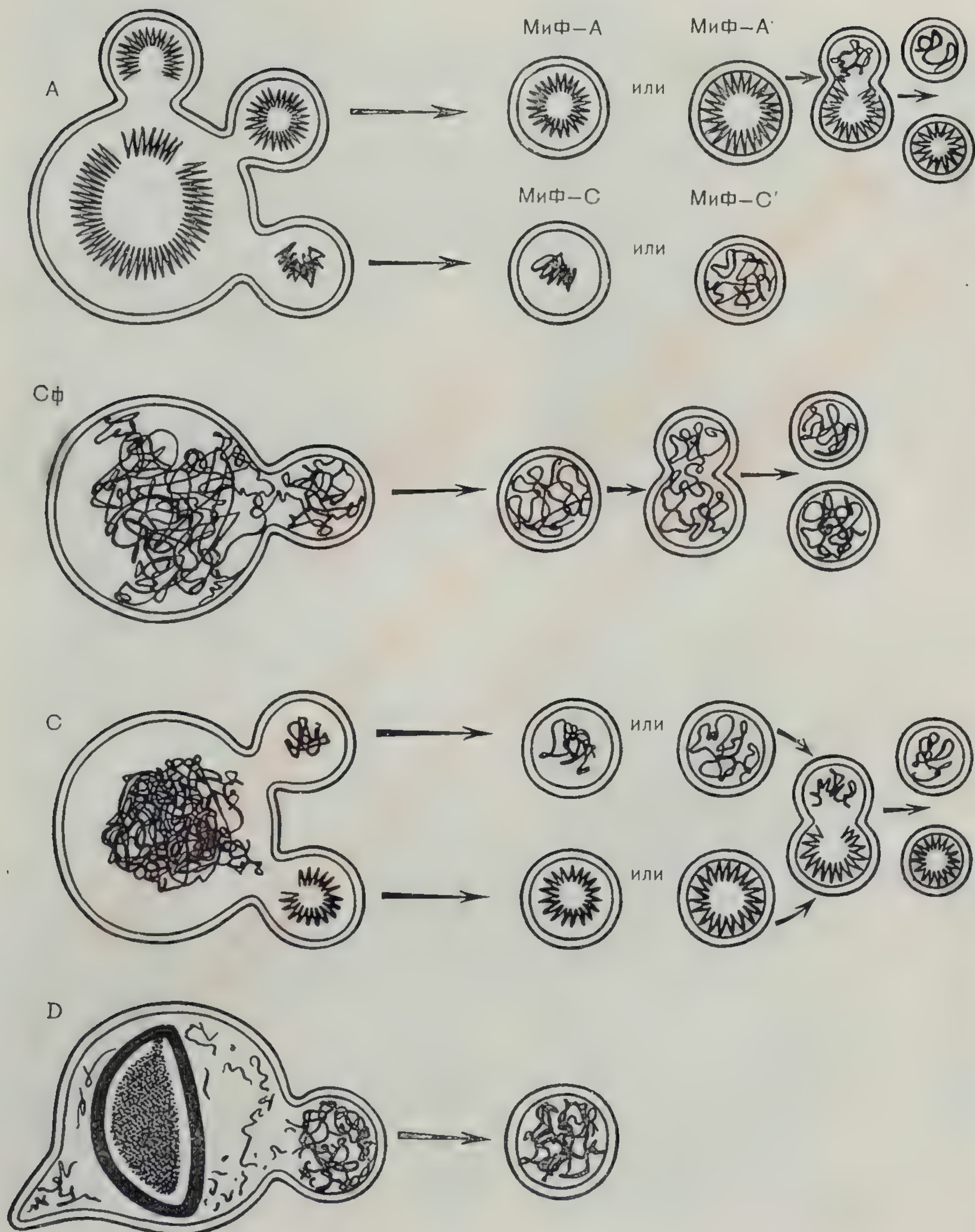
а—г—почкование предсформированных нуклеондов МиФ (ультратонкие срезы); д—МиФ типа А(С), почкующийся на конце клеточного отростка (негативное контрастирование).
а — ув. 600 000; б—д—ув. 300 000.



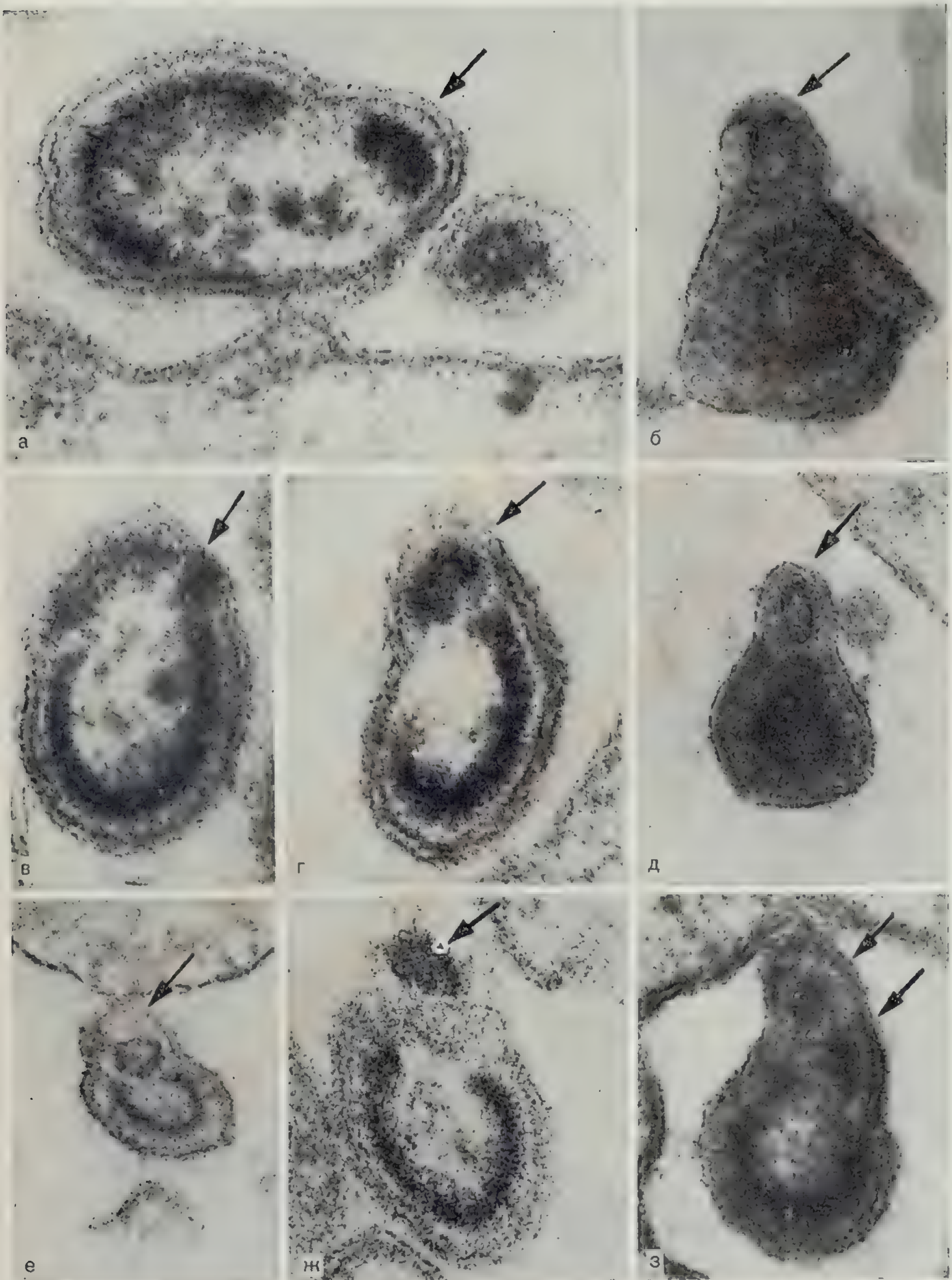
114. Варианты почкования МиФ (а—г) онковирусов
 типа С на поверхности клеток (указано
 стрелками).
 С — обычный онковирус типа С. Ув. 300 000.



115. Основные этапы формирования МиФ в процессе фрагментации обычных внеклеточных онковирусов типа А, типа С с фрагментарным нуклеоидом (Сф), типа С с центральным нуклеоидом, типа D (схема).

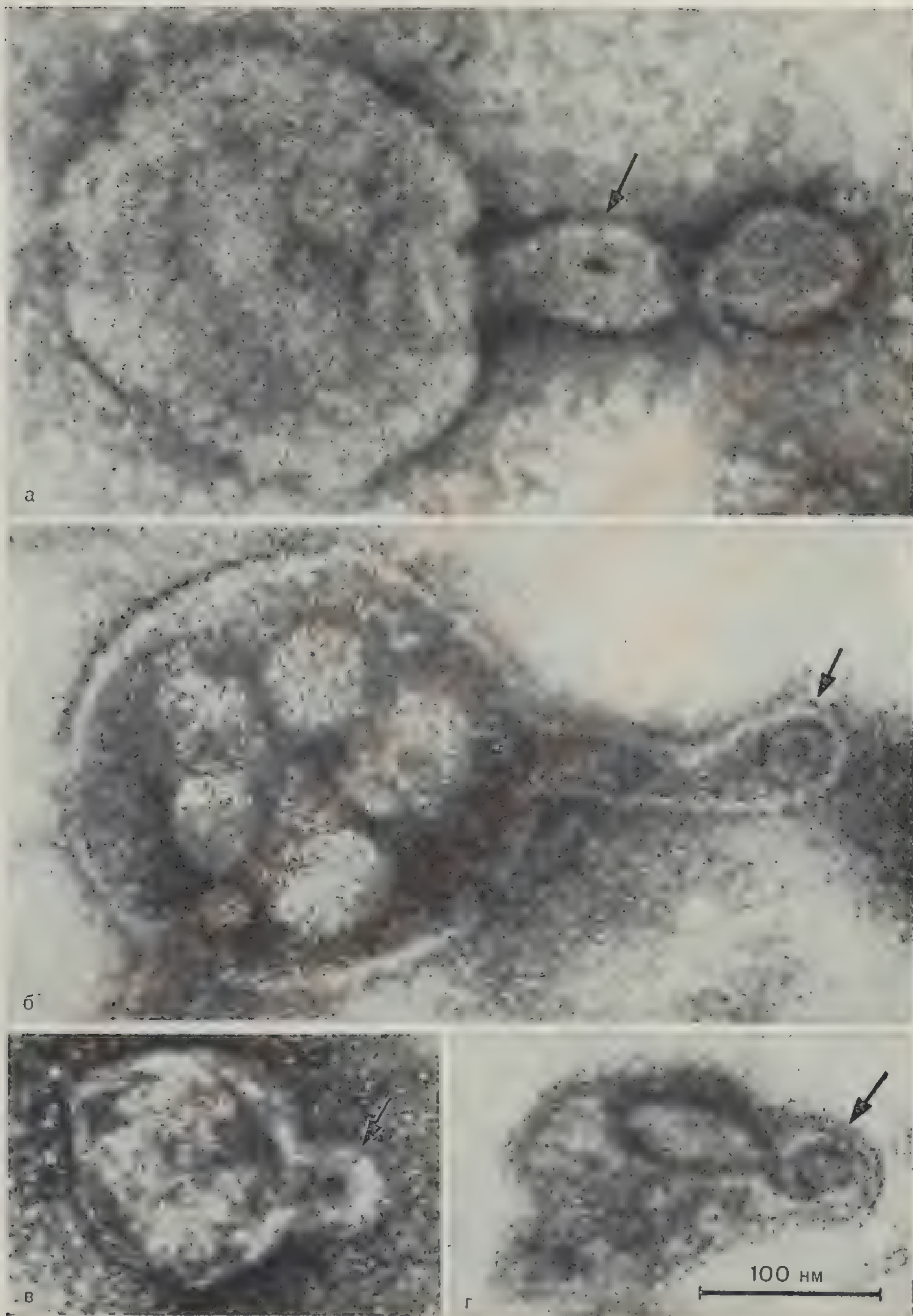


116. Формирование МиФ типа А (указаны стрелками) в процессе фрагментации обычных внеклеточных онковирусов типа А (D) (а—в) и А (С) (е—з). Ультратонкие срезы. Ув. 300 000.

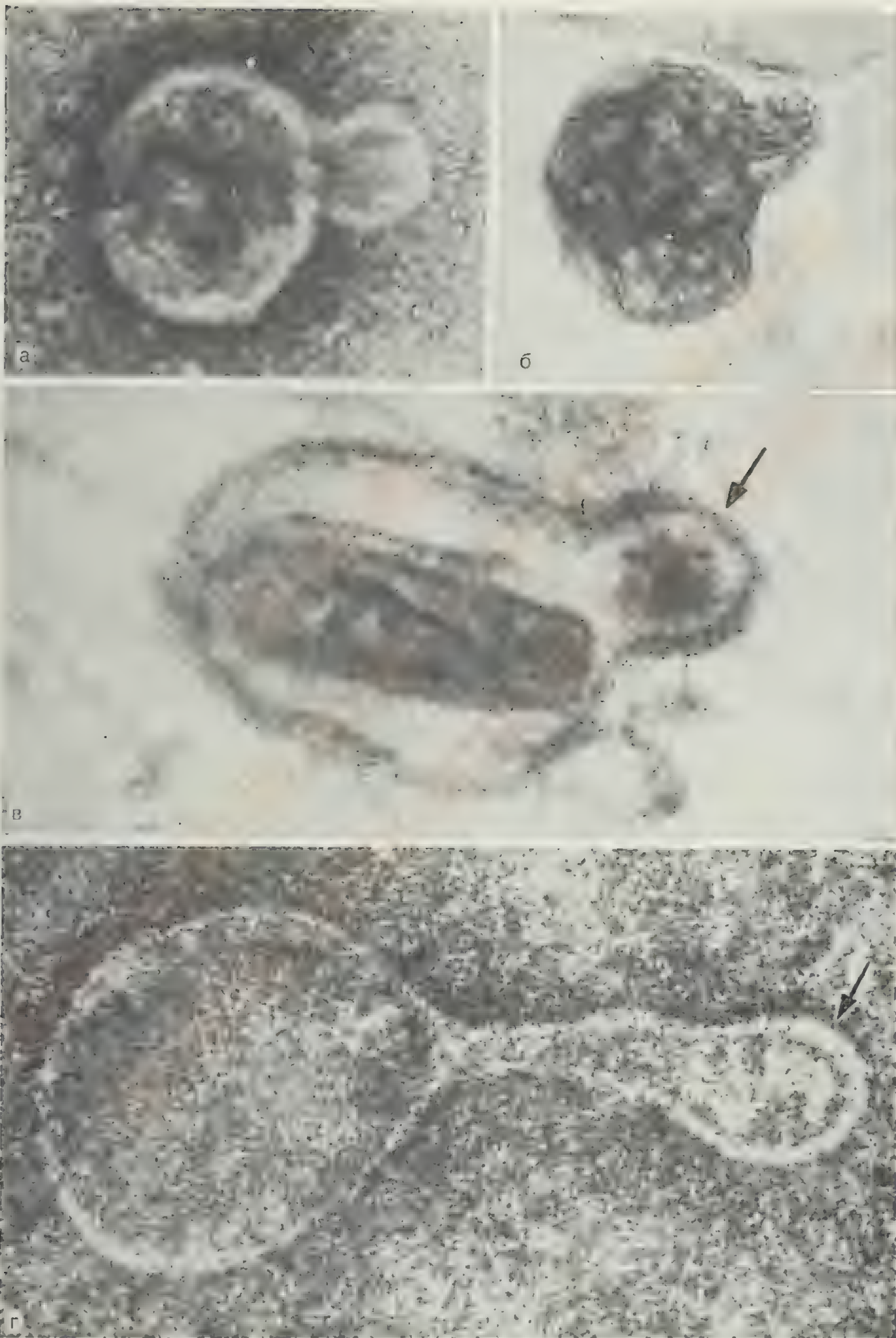


117. Формирование МиФ типа А (стрелками
указаны предсформированные сердцевинки
МиФ типа А) в процессе фрагментации
обычных внеклеточных онковирусов типа С
с фрагментированным нуклеоидом.

а—в—негативное контрастирование; г —
ультратонкий срез. Ув. 300 000.

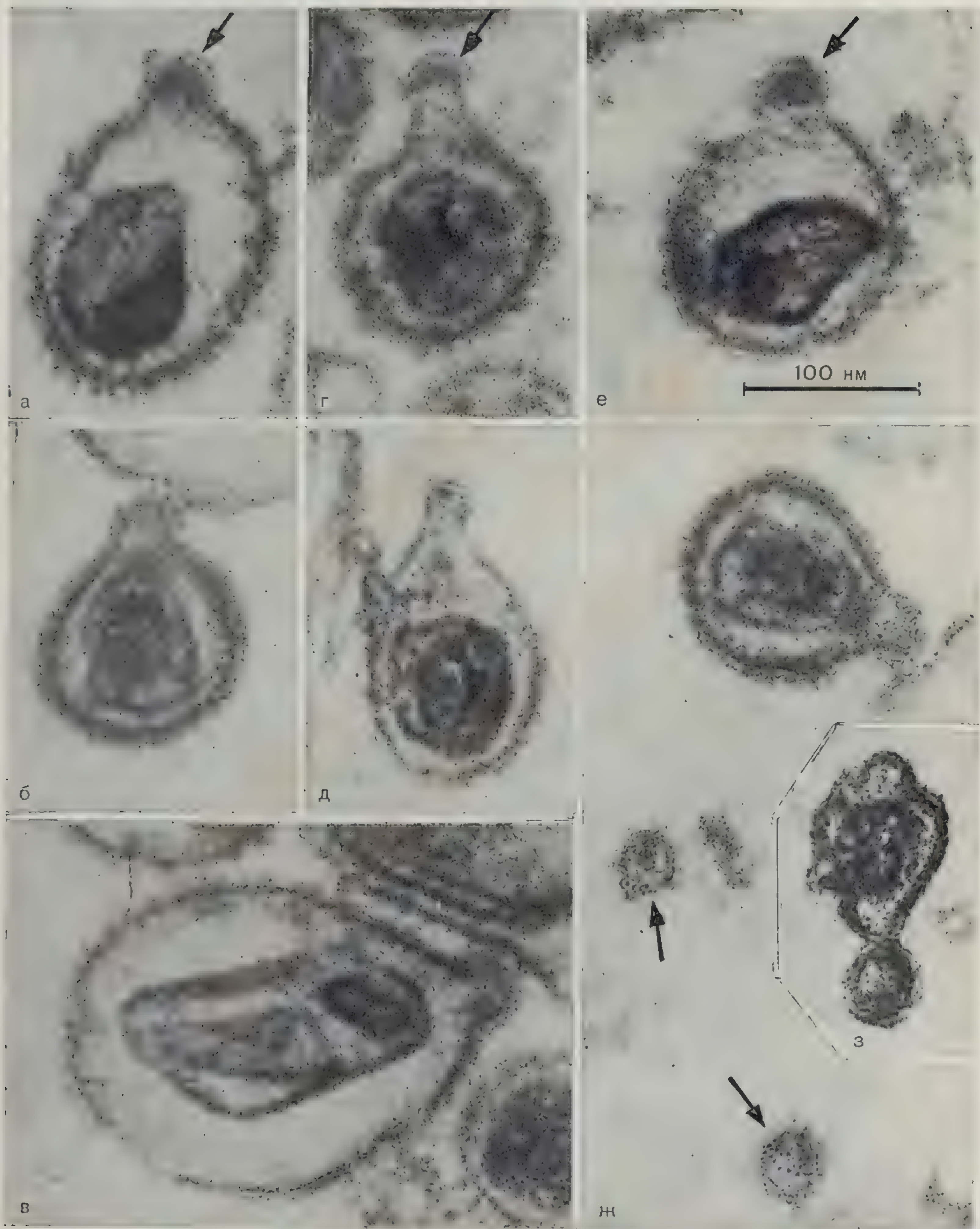


118. Формирование МиФ типа С в процессе
фрагментации обычных внеклеточных
онковирусов типа С. Ув. 300 000.
а, г — негативное окрашивание; б, в —
ультратонкие срезы.



119. Формирование (а—с, з) МиФ типа С' (указаны стрелками) в процессе фрагментации обычных внеклеточных онковирусов типа С. Ув. 300 000.

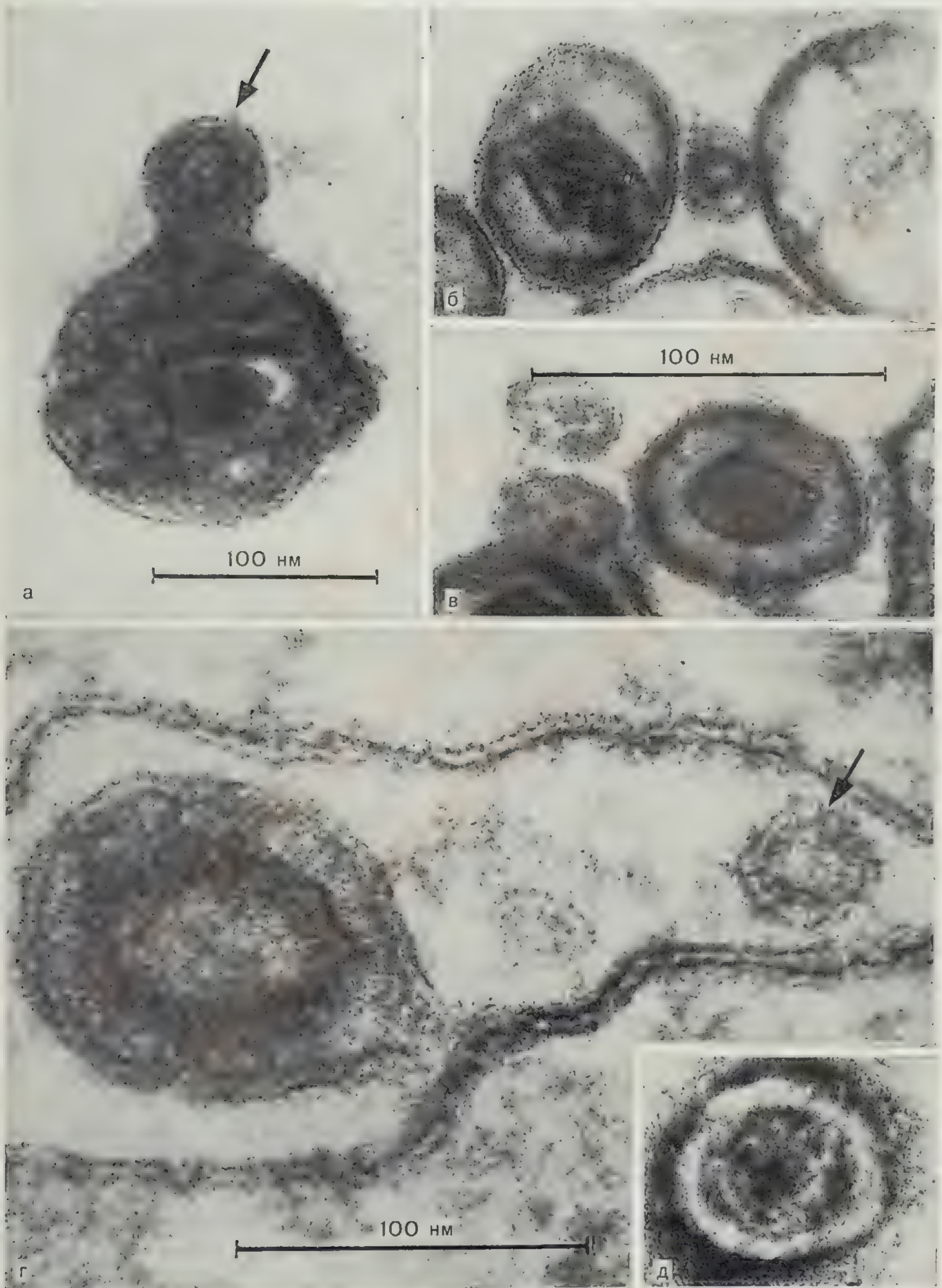
ж — стрелками указаны отделившиеся фрагменты МиФ типа С'.



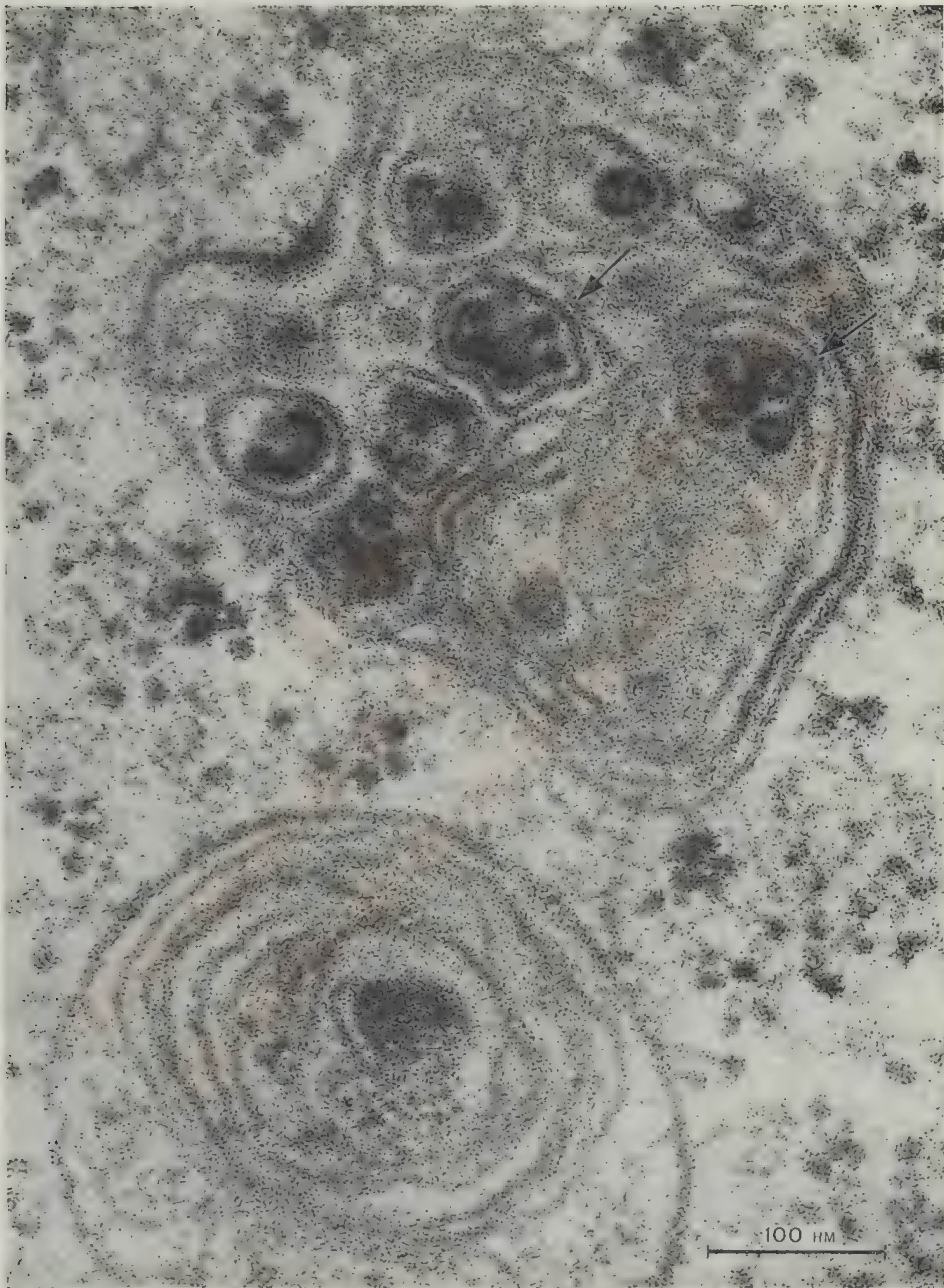
120. Формирование МиФ при фрагментации онковирусов типа D.

а — образование почки на вирионе типа D (клетки ИЕр-2).

Ув. 380 000; б, в — МиФ типов А и С вируса РРМ-8226. Ув. 300 000; г — МиФ типа А' вируса клеток ИЕр-2 (ультратонкий срез); д — негативное контрастирование. Ув. 600 000.



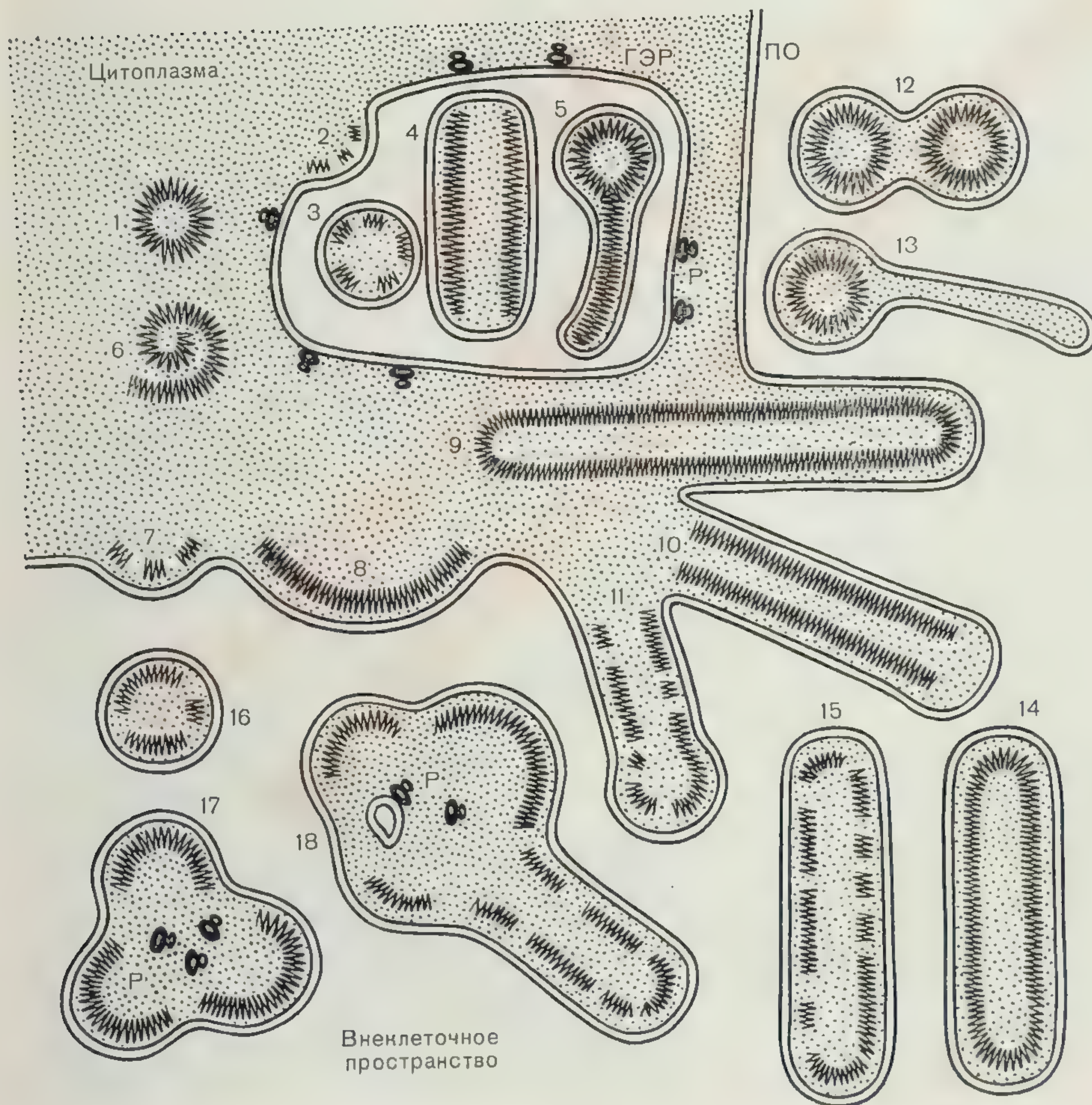
121. Фрагментация онковирусов
в фагосомно-лизосомном аппарате (указаны
стрелками). Ув. 300 000.



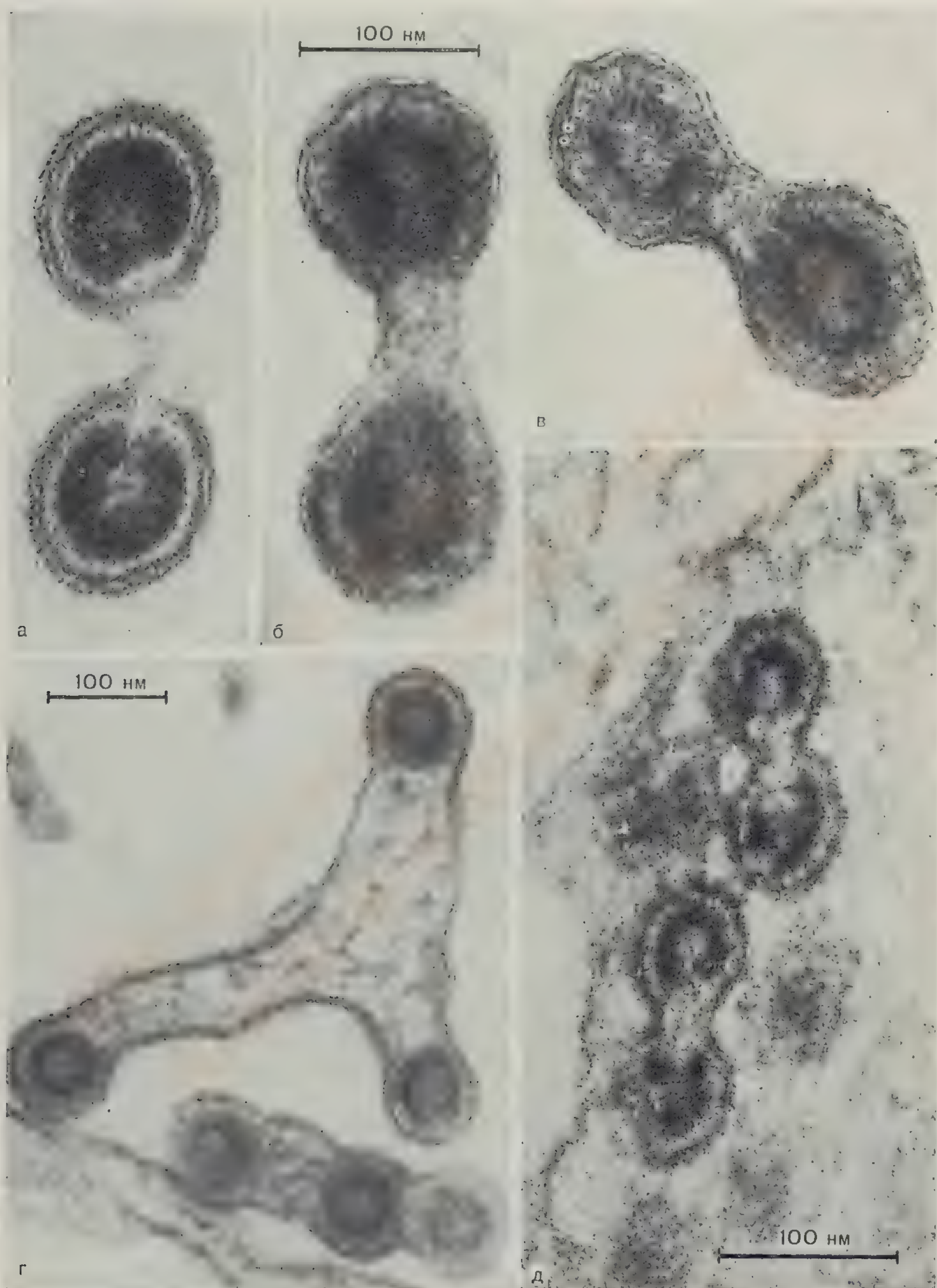
122. Основные типы аномалий онковирусов типа А (схема).

1 — обычная цитоплазматическая сердцевина типа А; 2 — аномальное формирование фрагментированной сердцевинки цистернавируса типа А (С); 3 — сформированный сферический цистернавирус с фрагментированной сердцевинкой; 4 — сформированный цилиндрический цистернавирус типа А (С); 5 — аномальная форма цистернавируса с отростком; 6 — аномальное формирование цитоплазматической сердцевинки типа А (D); 7 — почкование онковируса типа А (С) с фрагментированной сердцевинкой; 8 — почкование гигантской формы онковируса типа А (С) или А (D) на поверхности клетки; 9 — почкование гигантской цилиндрической формы онковируса типа А (D) с предварительно предсформированной сердцевинкой;

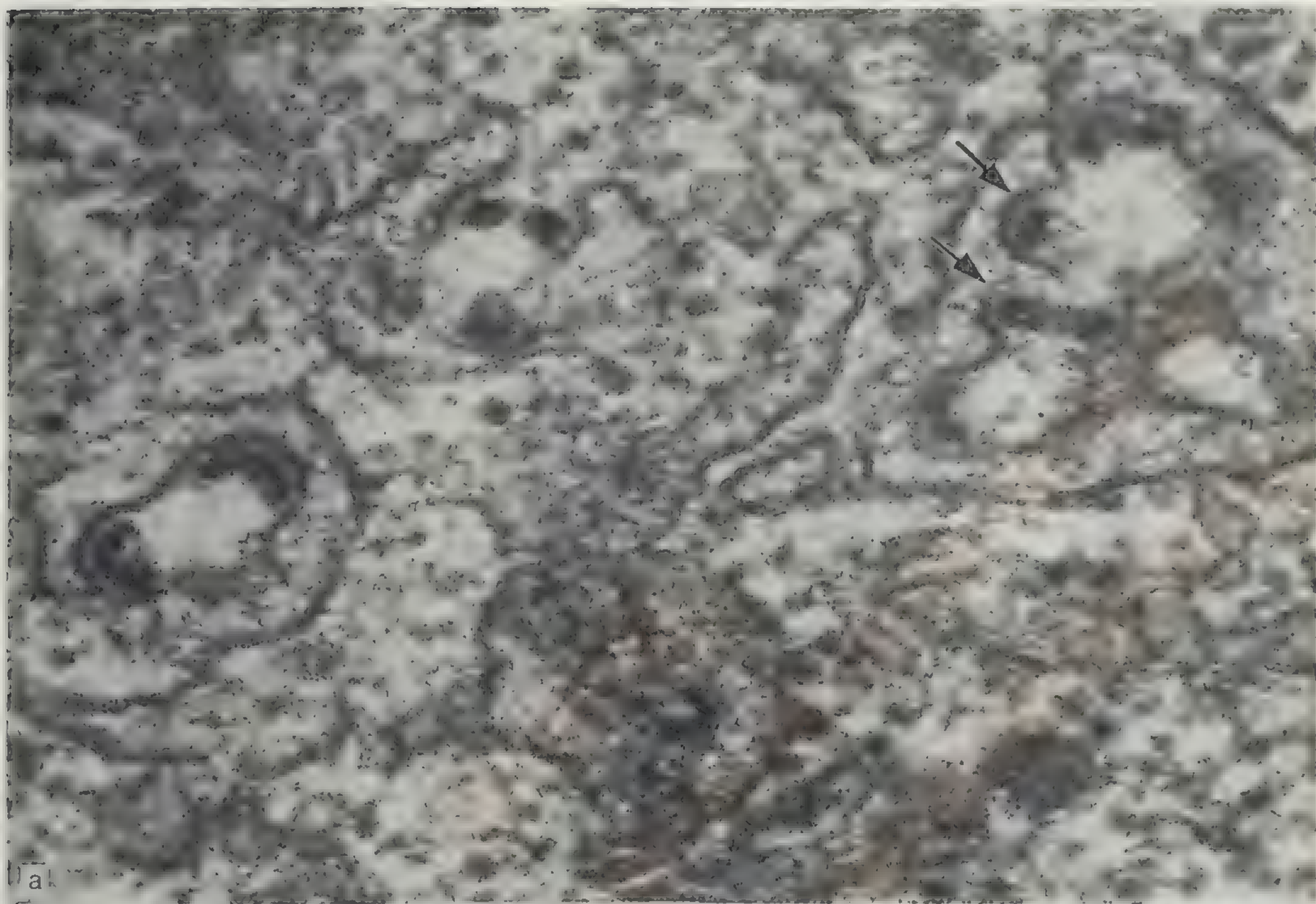
10—11 — различные формы почкования гигантских цилиндрических онковирусов типа А (С) или А (D); 12 — внеклеточный онковирус типа А (D), А (С) или А (В) с двойной сердцевинкой; 13 — внеклеточный онковирус типа А с отростком; 14 — внеклеточная гигантская цилиндрическая форма онковируса типа А; 15 — внеклеточная гигантская цилиндрическая форма онковируса типа А с фрагментированной сердцевинкой; 16 — внеклеточная сферическая форма онковируса типа А с фрагментированной сердцевинкой; 17 — внеклеточная полинуклеонидная форма онковируса типа А с фрагментированными сердцевинами; 18 — внеклеточная гигантская форма онковируса типа А с обычными и цилиндрическими сердцевинами. ГЭР — гранулярный эндоплазматический ретикулум; Р — рибосомы; ПО — плазматическая оболочка клетки.



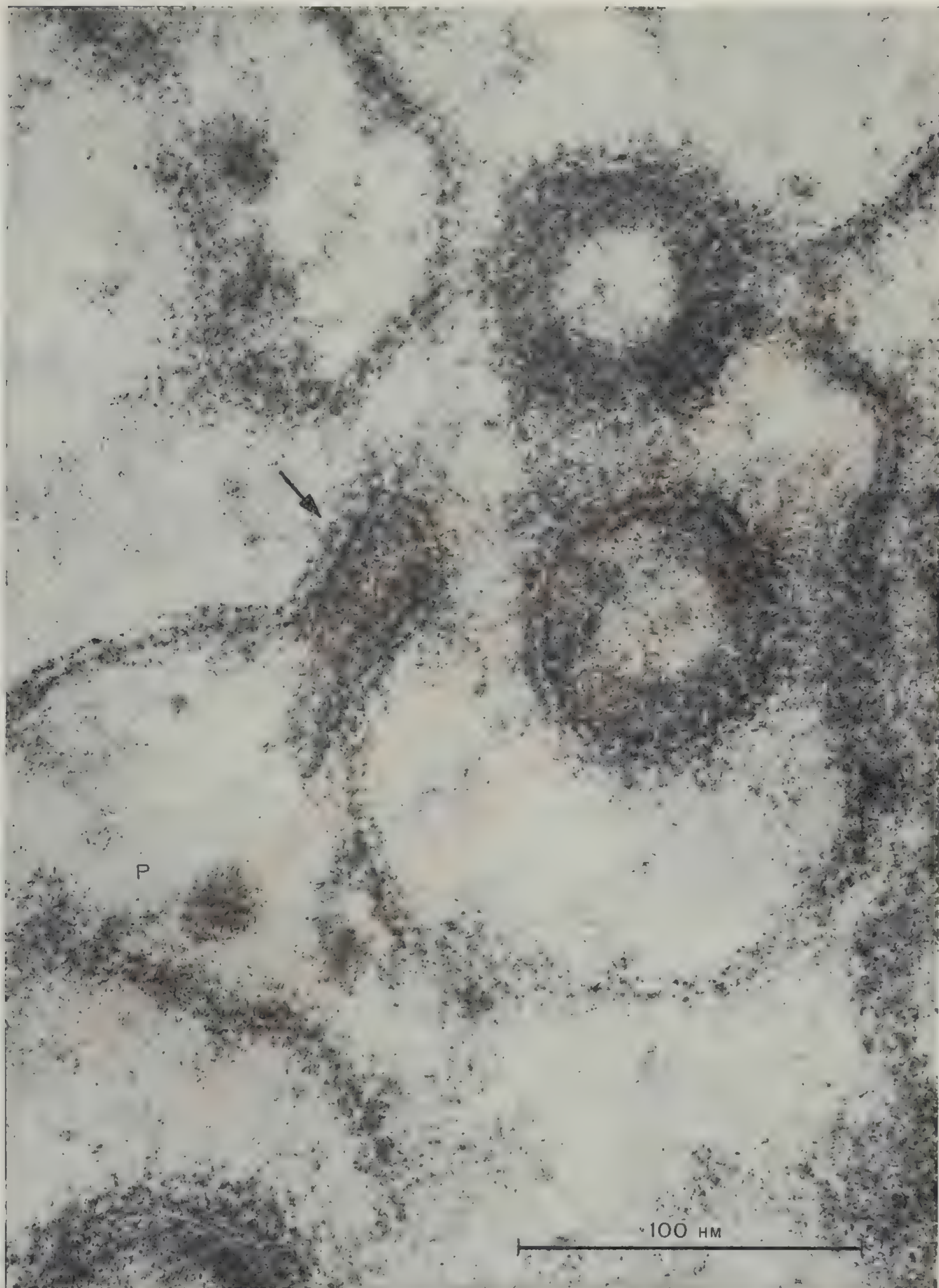
123. Дипло(олиго-нуклеотидные) формы
внеклеточных (а—г) и внутрицистернальных
(б) онковирусов типа А.
а—в, д—ув. 300 000; г—ув. 180 000.



124. Различные типы почкования аномальных форм
цистерновирусов типа А'
с фрагментированными сердцевинами
(указано стрелками). Ув. 180 000.

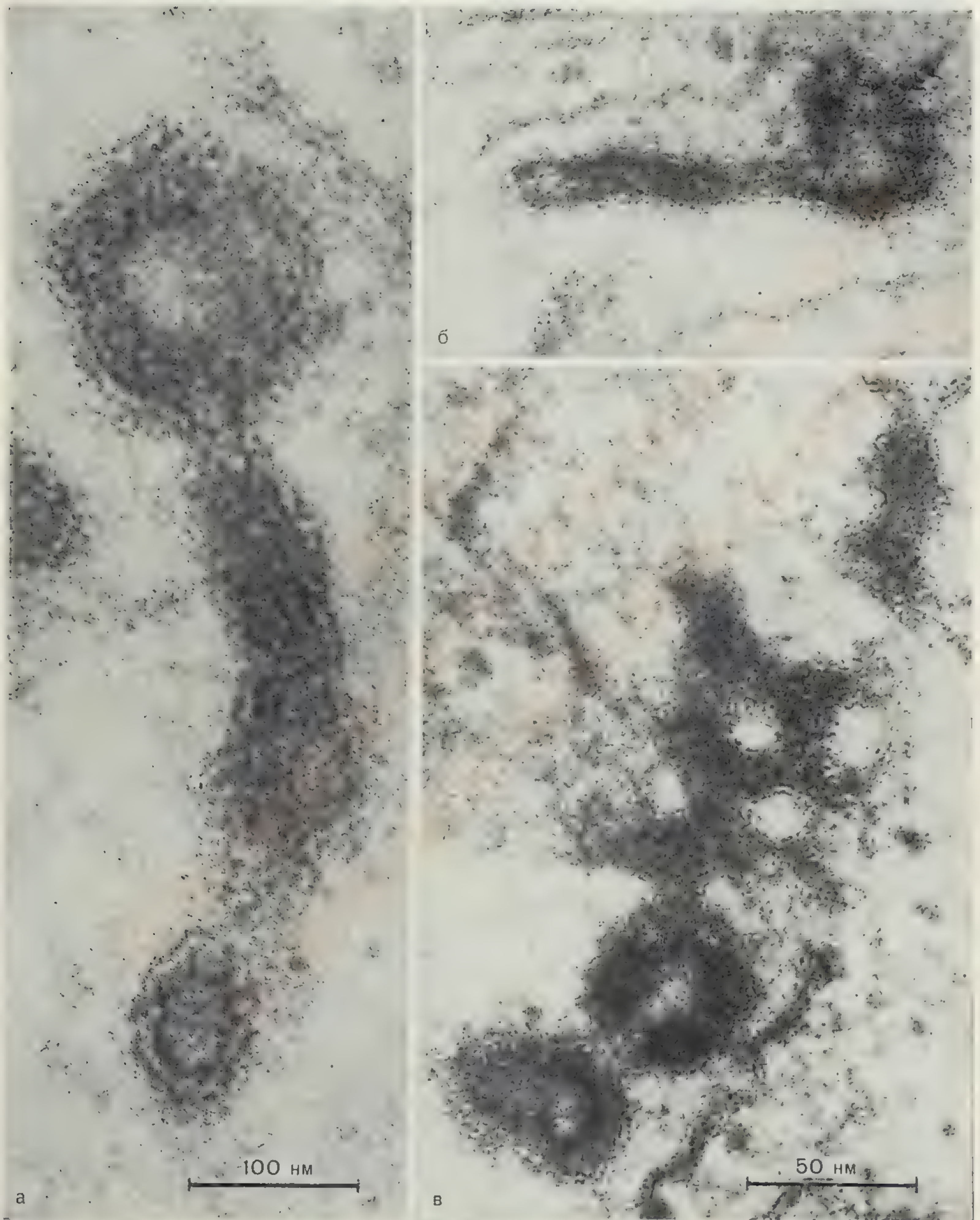


125. Формирование обычных и аномальных
(указано стрелкой) цистернавирусов типа А.
Ув. 600 000.
Р — рибосома.

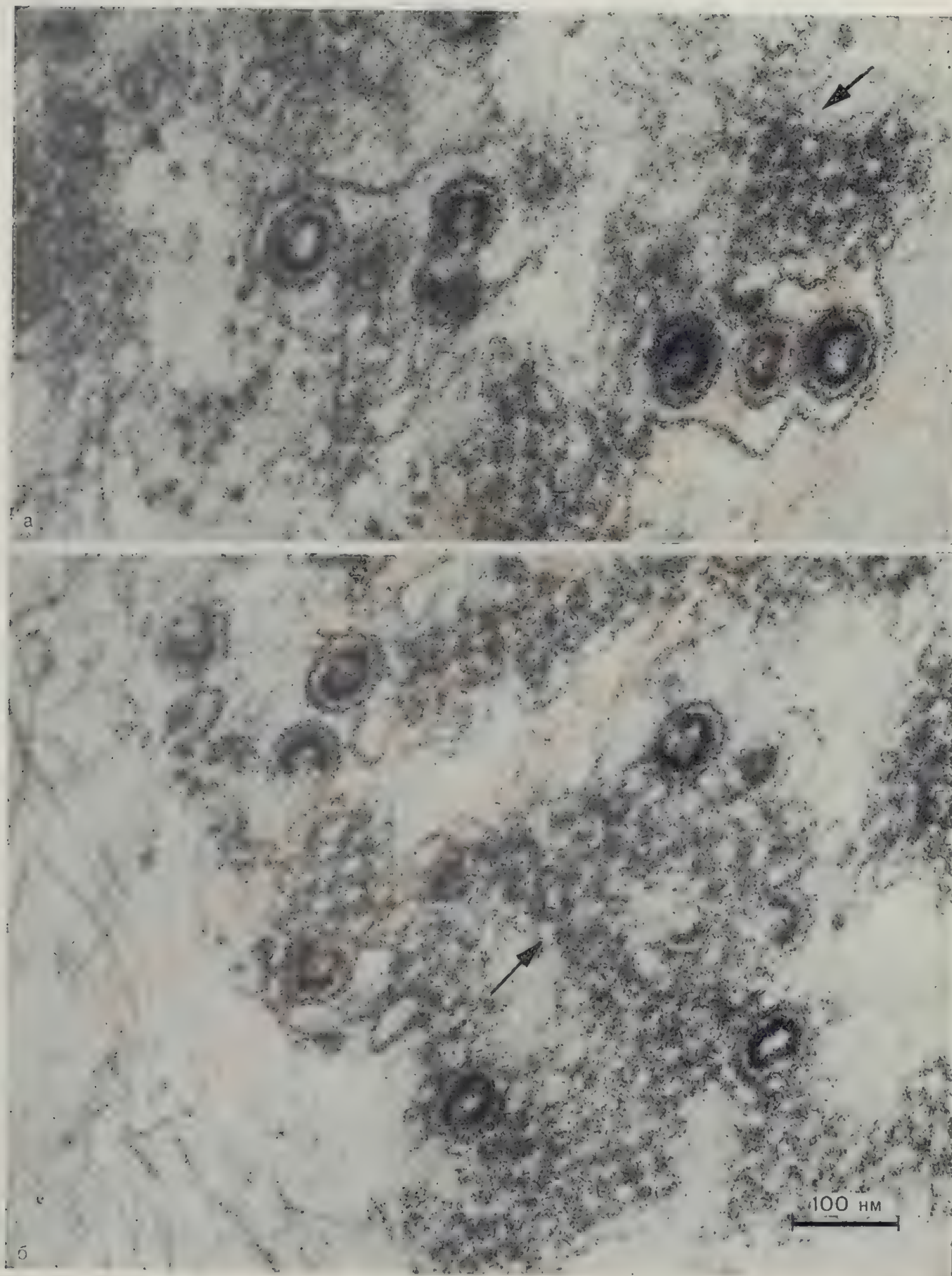


126. *Различные типы аномалий цистернавирусов
типа А.*

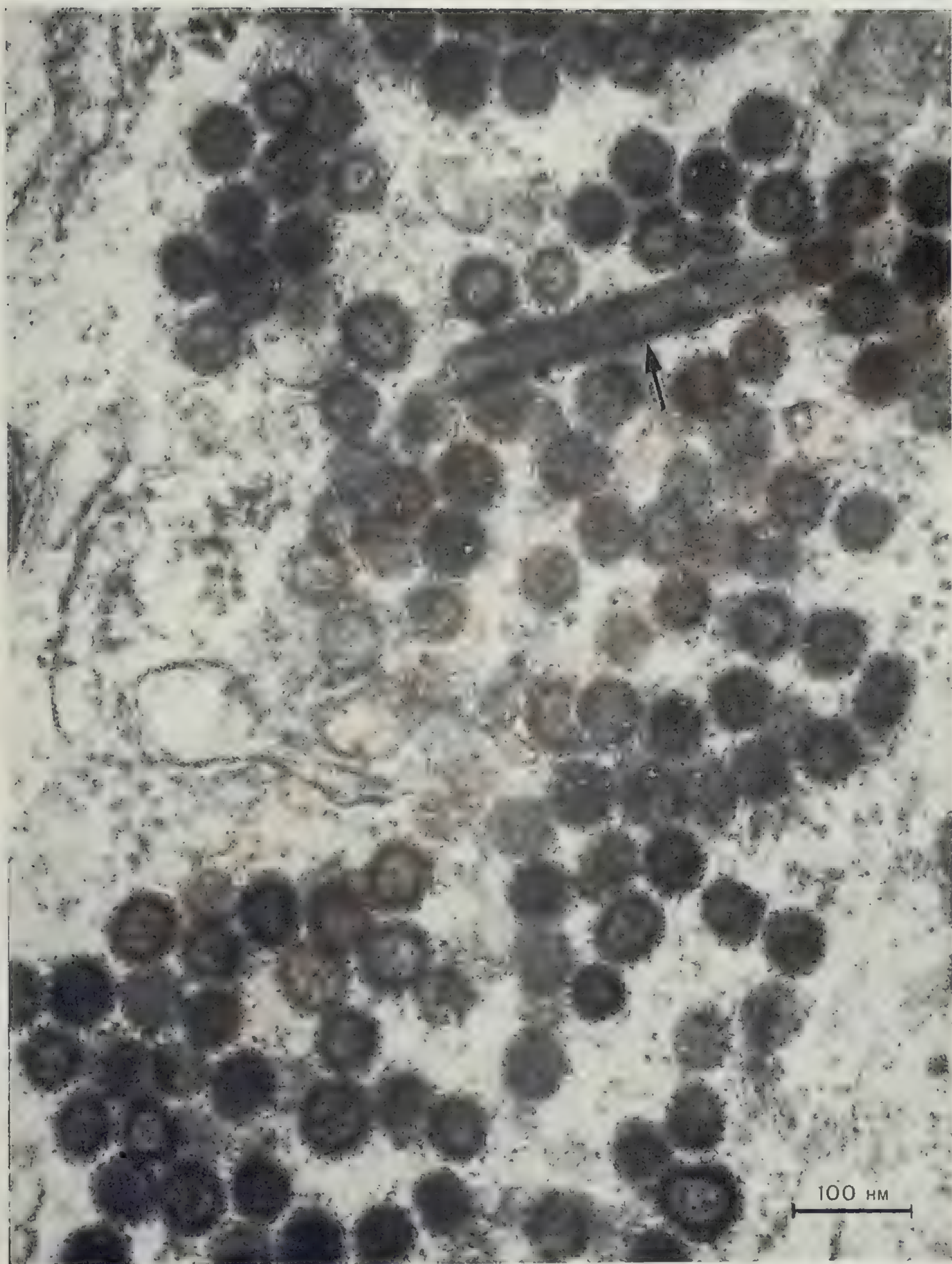
а, б — вирионы с отростками; а — ув. 600 000, б —
ув. 300 000; в — полинуклеонидные аномальные
формы цистернавирусов типа А. Ув. 300 000.



127. Формирование цистернавирусов (а, б) типа А' в зоне ретикулярно-трубчатых структур (указаны стрелками). Ув. 180 000.

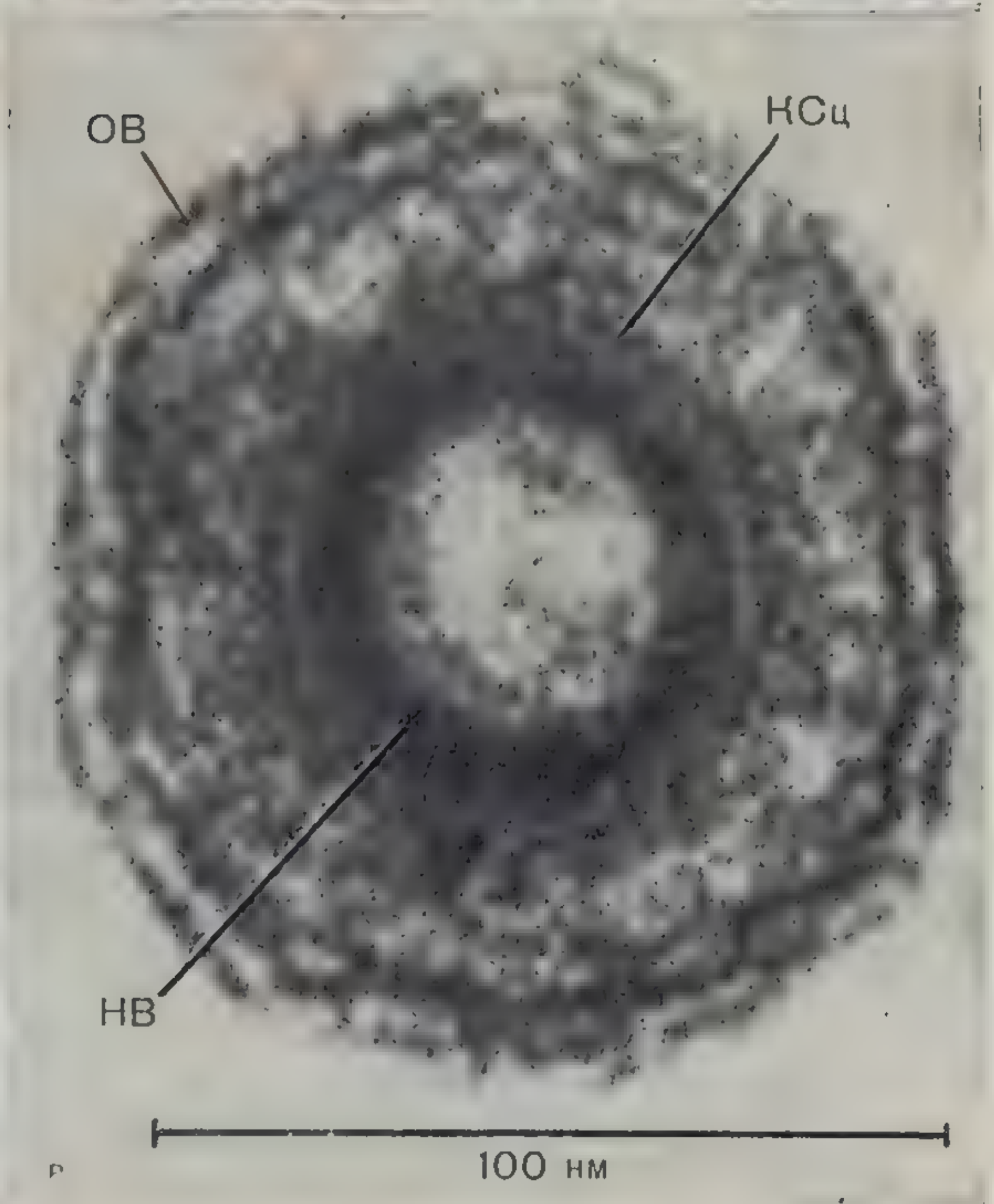
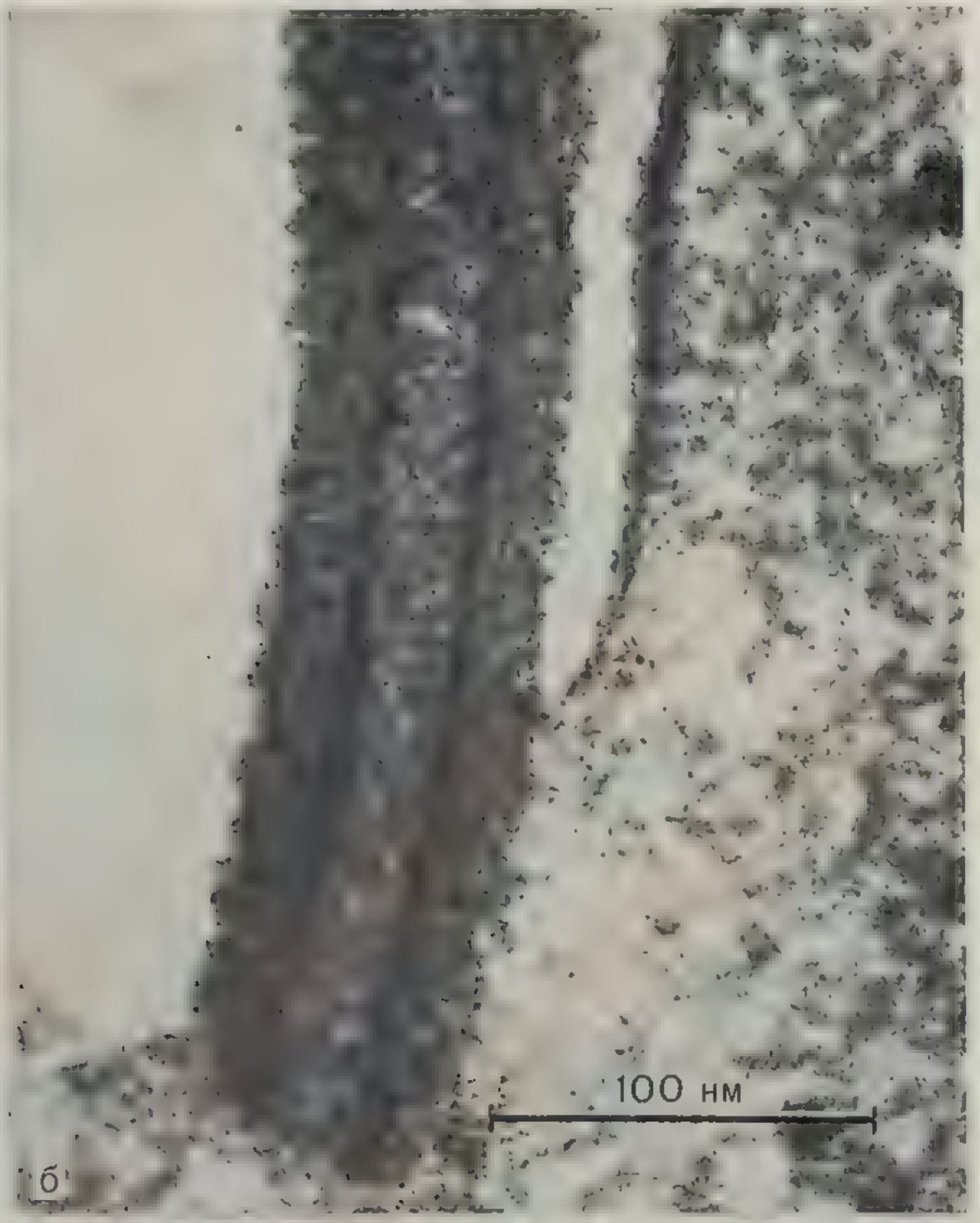


128. Цилиндрическая сердцевина типа А (указано стрелкой) в зоне скопления обычных сферических сердцевин в цитоплазме клетки ПЕр-2. Ув. 200 000.



129. Аномалии онковирусов типа А (D).
Стрелкой показан вирион типа D обычного
размера. Ув. 300 000. Продольное (а, б)
и поперечное (в) рассечение гигантских
цилиндрических вирионов типа А (D).

б — ув. 380 000; в — ув. 600 000. ОВ — оболочка вируса;
НВ — нуклеоид; КСц — капсула сердцевины.



130. Почкование гигантских онковирусов типа А (С)
со сферической (а) и диффузной (б)
сердцевинами. Ув. 600 000.



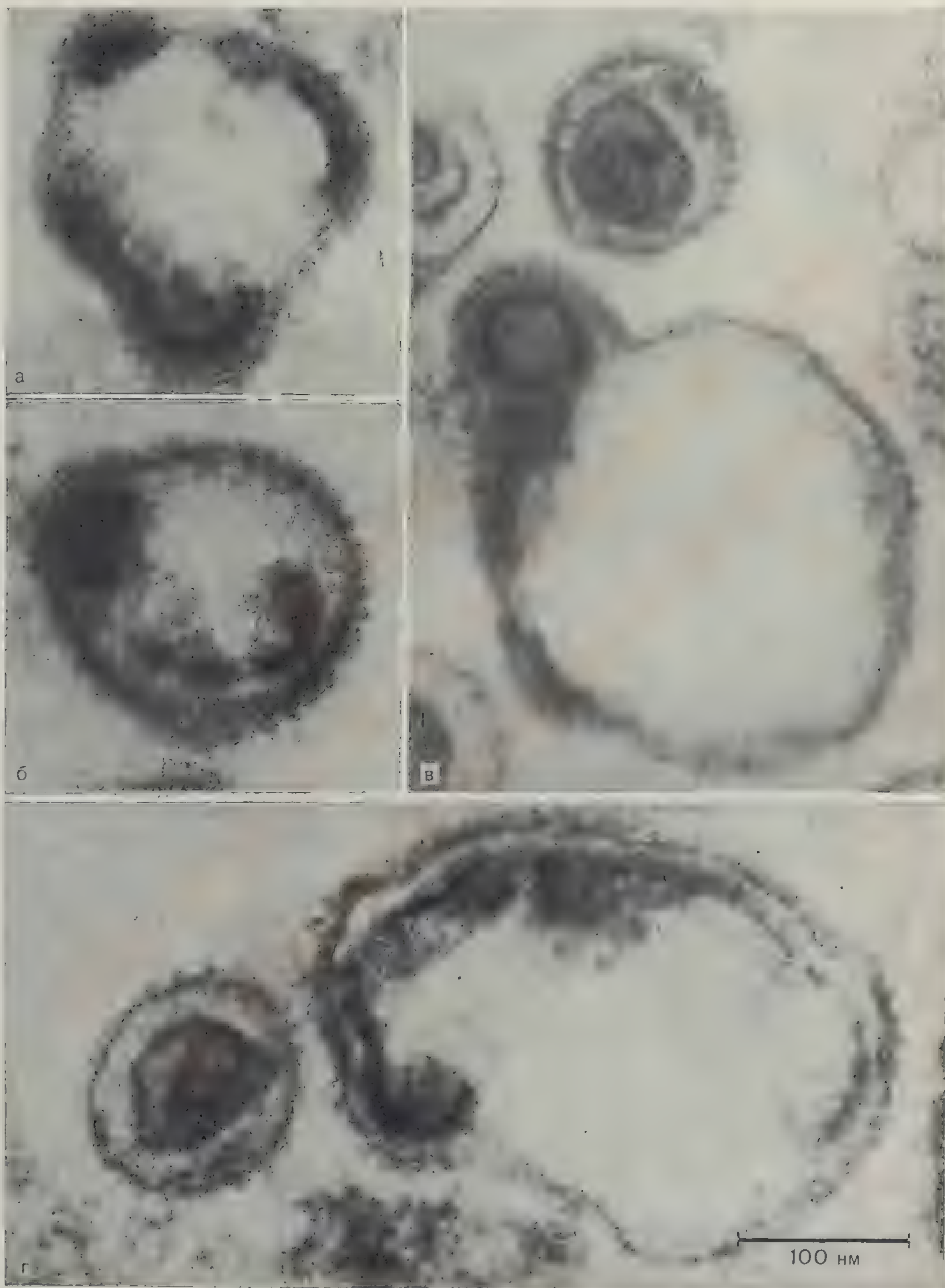
131. Почкование (а, б) цилиндрических
онковирусов типа А (С) на концах клеточных
отростков. Ув. 300 000.



132. Ультраструктура почкующейся (а)
и внеклеточной (б) цилиндрической формы
онковируса типа А (С). Ув. 300 000.

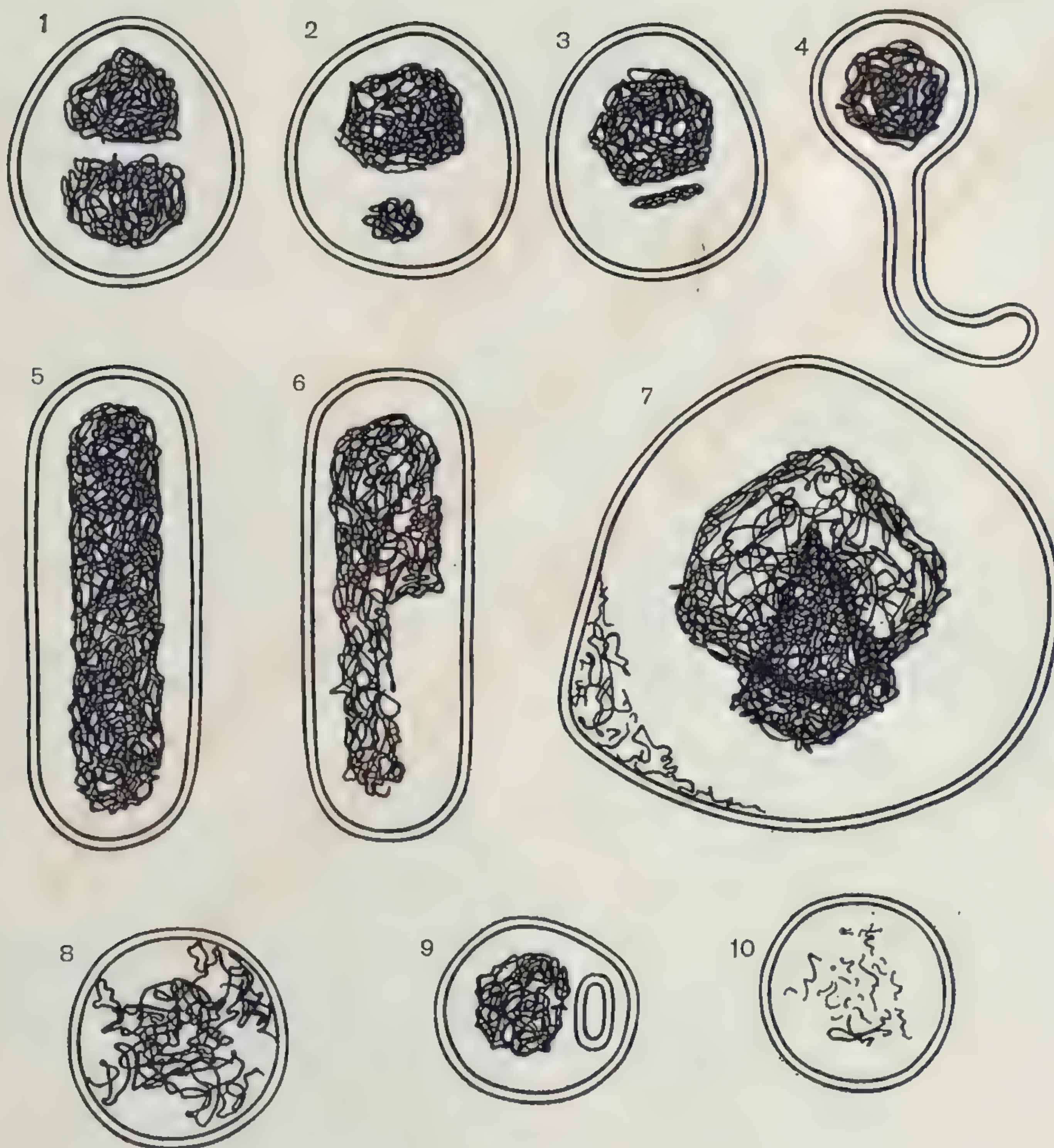


133. Ультраструктура гигантских (а—г) аномальных
сферических онковирусов типа А (С).
Ув. 300 000.



134. Основные типы аномалий онковирусов типа С (схема).

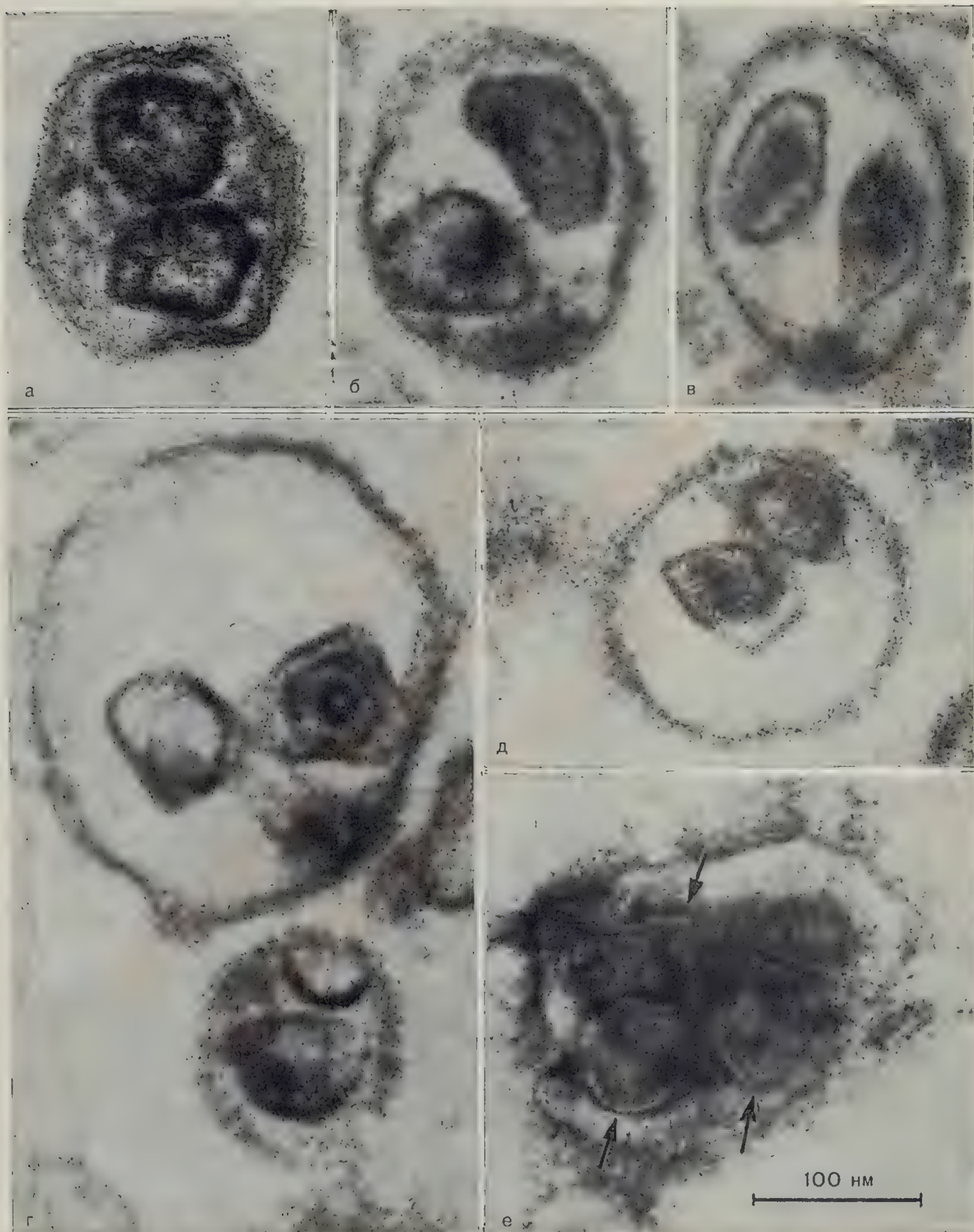
1 — онковирс с двумя равновеликими сердцевинами; 2 — онковирс с двумя разновеликими сердцевинами; 3 — онковирс с дополнительным фрагментом капсулы сердцевин; 4 — отростчатая форма онковируса; 5 — гигантская цилиндрическая форма онковируса типа С с электронно-оптически плотной сердцевинной; 6 — гигантская цилиндрическая форма онковируса с сердцевинной неравномерного диаметра; 7 — гигантская сферическая форма онковируса типа С; 8 — онковирс с диффузным (сетчатым) нуклеоидом; 9 — включение в онковирс вакуоли; 10 — полая форма онковируса с редуцированной сердцевинной.



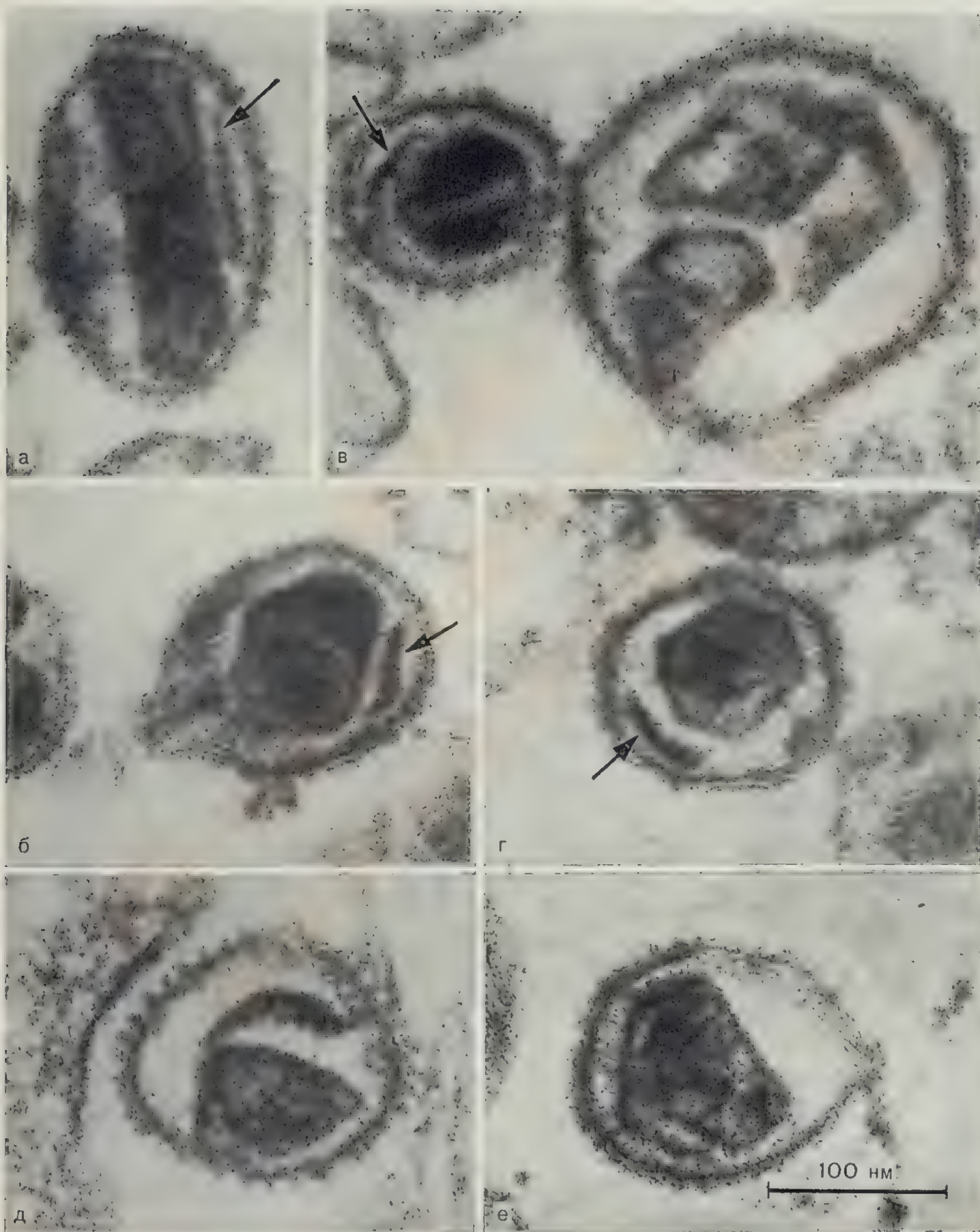
100 nm

135. Структура аномальных форм онковирусов
типа С. Ув. 300 000.

а—д—внеклеточные вирионы с двумя
равновеликими сердцевинами (ультратонкие
срезы); е — внеклеточный вирион с равновеликими
(указано стрелками) сердцевинами (негативное
контрастирование).

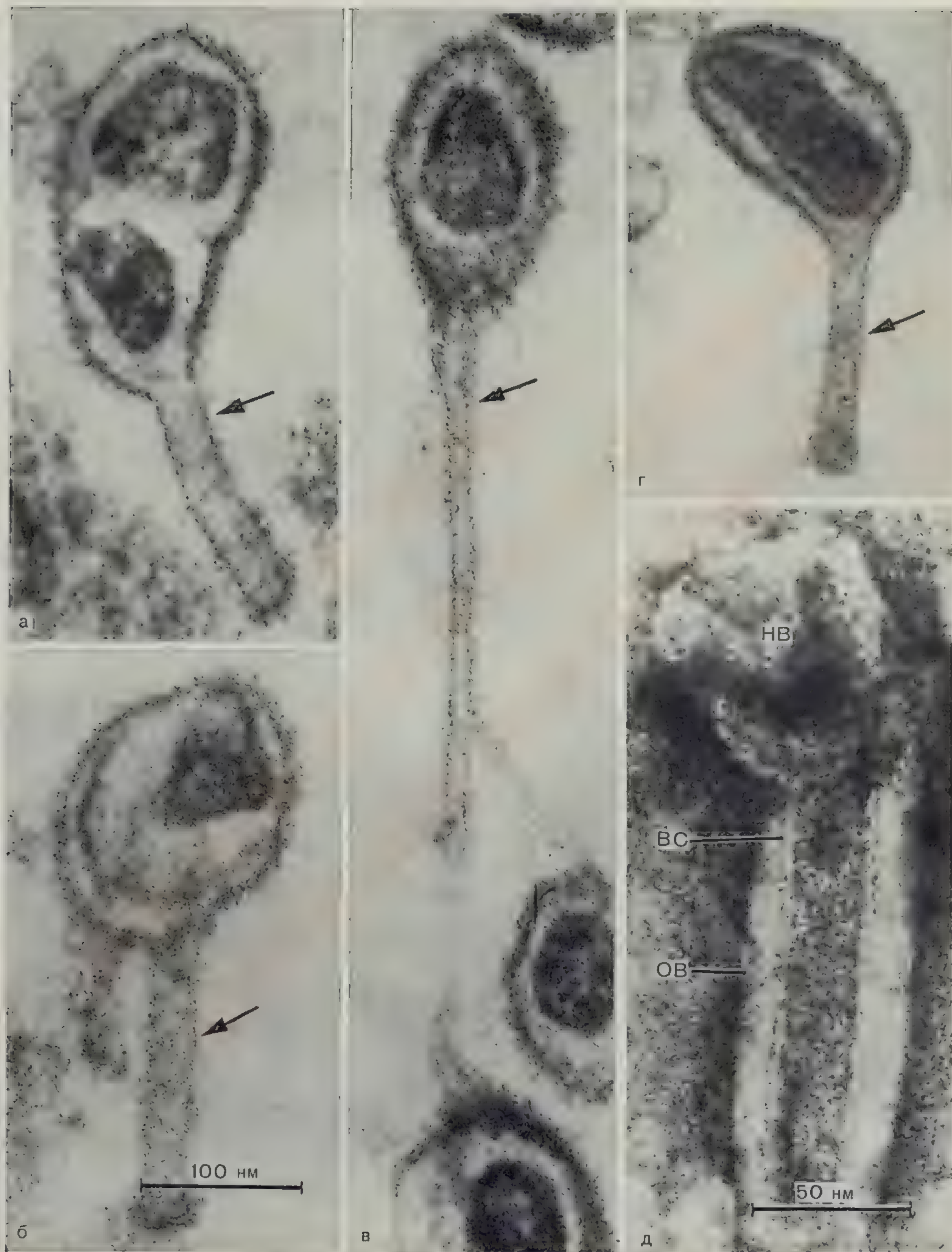


136. Ультраструктура аномальных (а—е) форм онковирусов типа С с дополнительными фрагментами капсул сердцевин вируса (указаны стрелками). Ув. 300 000.

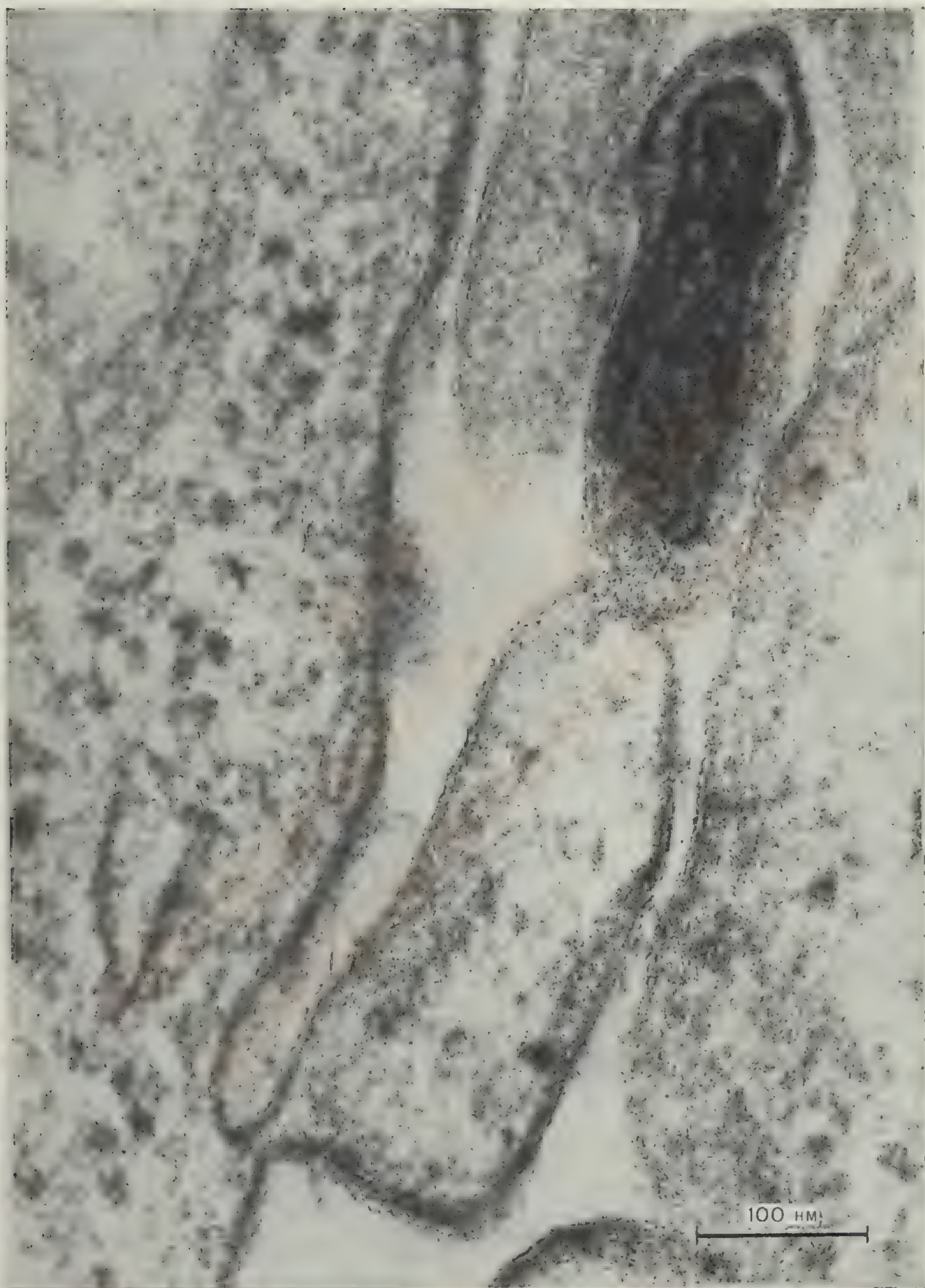


137. Структура аномальных отростчатых форм онковирусов типа С (отростки обозначены стрелками).

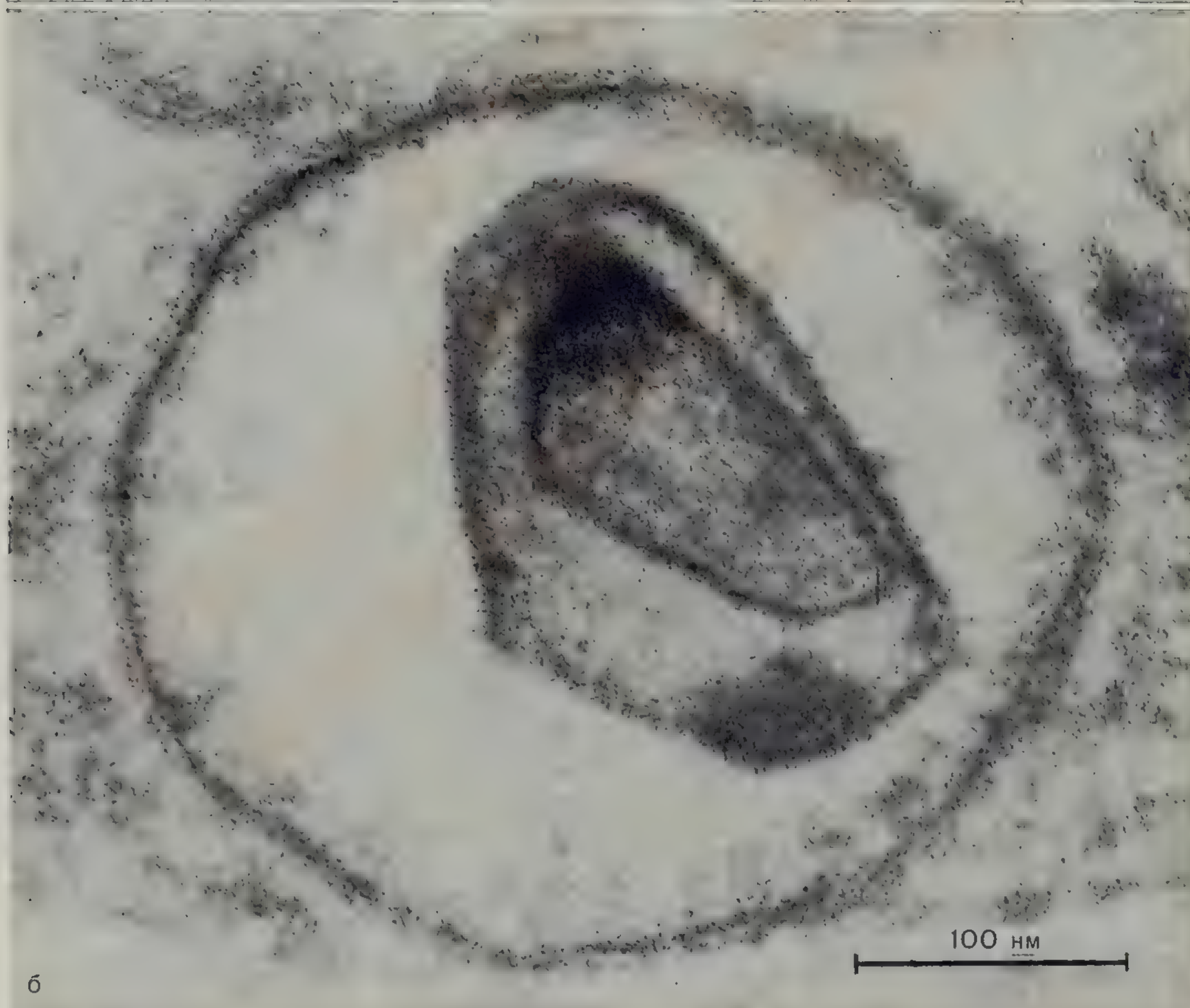
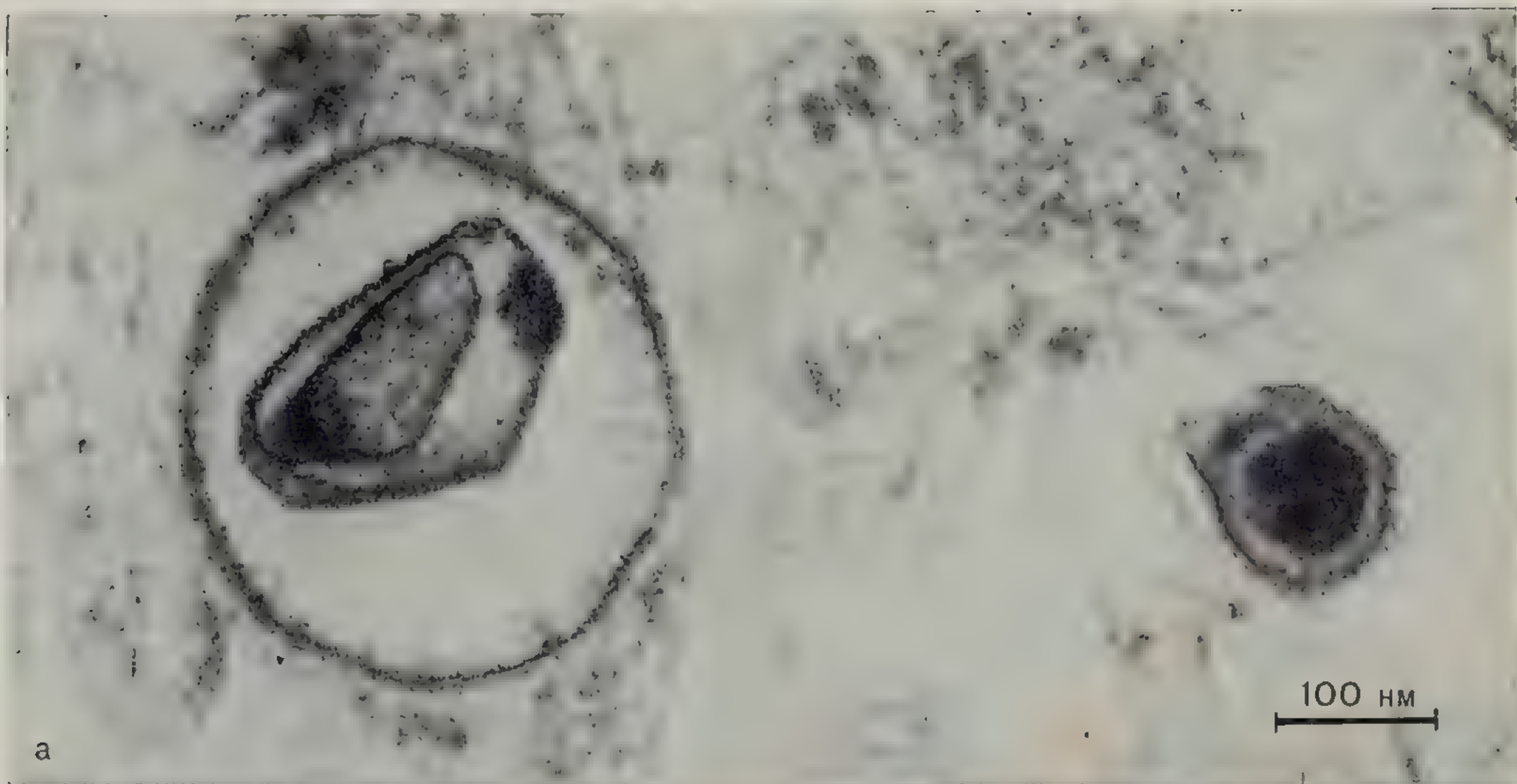
а—г—ультратонкие срезы. Ув. 300 000; д —
 негативное контрастирование. Ув. 600 000.
 ОВ — оболочка вируса; ВС — внутренний слой;
 НВ — нуклеонд вируса.



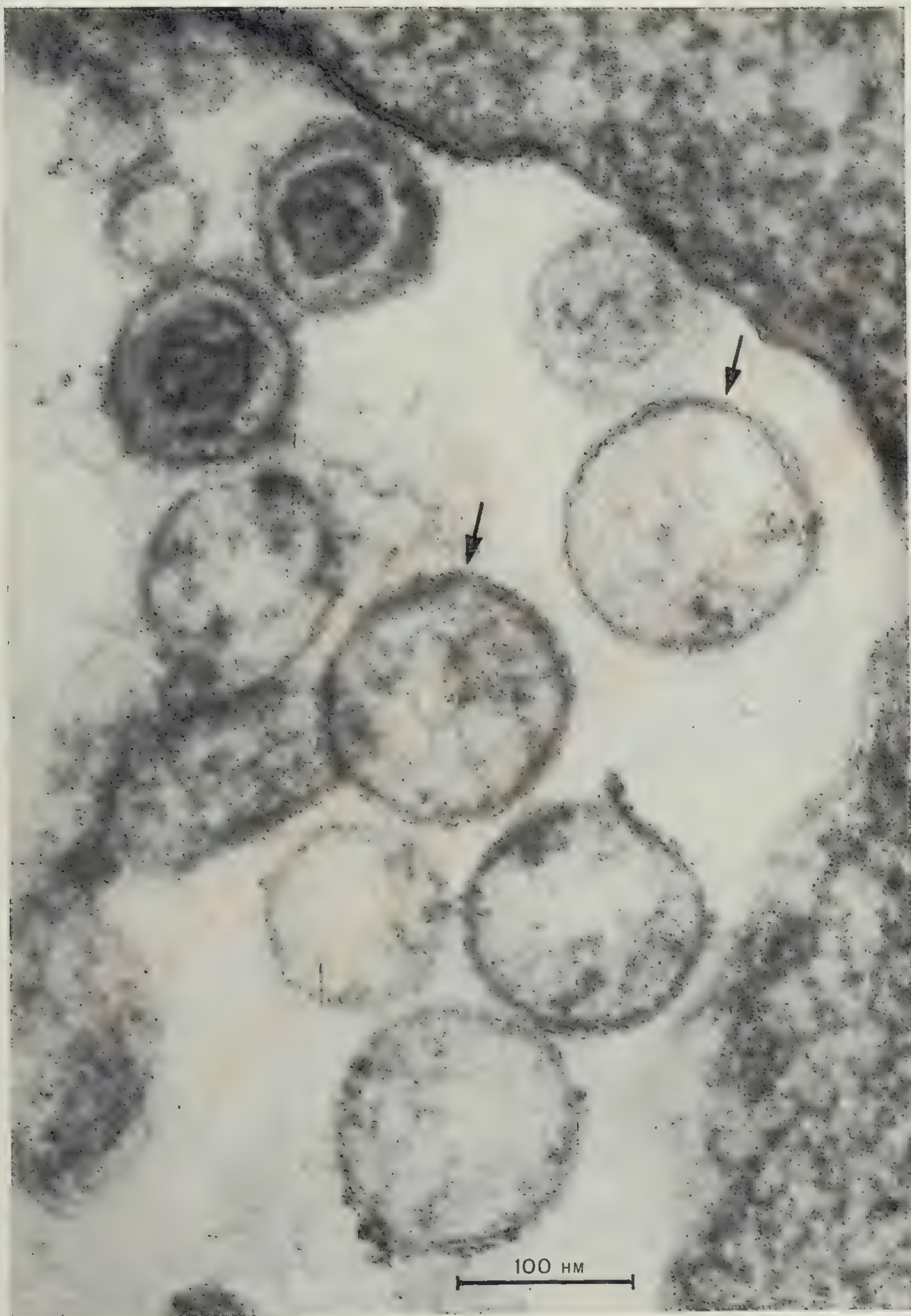
138. Почкование гигантской формы онковируса
типа С. Ув. 300 000.



139. Структура сферических гигантских
аномальных форм онковирусов типа С
с сферическими сердцевинами.
а — обзор, справа — обычный онковирс; б —
фрагмент а. Ув. 380 000.



140. Структура аномальных форм онковирусов
типа С с редуцированными сердцевинами
(указаны стрелками). Ув. 300 000.



диаметр обычных сферических сердцевин типа А. Нередко наблюдается почкование фрагментов сферических и цилиндрических сердцевин. В образующихся подобным образом внеклеточных вирионах нуклеонд состоит из отдельных фрагментов различной величины. Диаметр подобных гигантских сферических онковирусов типа А также в 2—4 раза превышает размеры обычных онковирусов (рис. 133).

Основные аномальные формы онковирусов типа С изображены на рис. 134—140.

Наибольший интерес представляет обнаружение в популяции гигантских форм онковирусов типа С. Одна из этих форм характеризуется тем, что внеклеточный вирус имеет удлиненную форму, а длина плотной осmioфильной сердцевинки 250—350 нм (см. рис. 138). Диаметр подобных сердцевин колеблется от 70 до 45 нм.

Впервые подобные формы онковирусов типа С были описаны А. Ф. Быковским и соавт. (1976, 1977) в популяции онковирусов мышей. В 1978 г. Frank и соавт. при изучении вируса Френд обнаружили подобные вирионы с сердцевинами размером 60×160 нм. Методом иммунной электронной микроскопии было доказано антигенное родство (по gr71) этих нитевидных структур с вирусами лейкемии Френд.

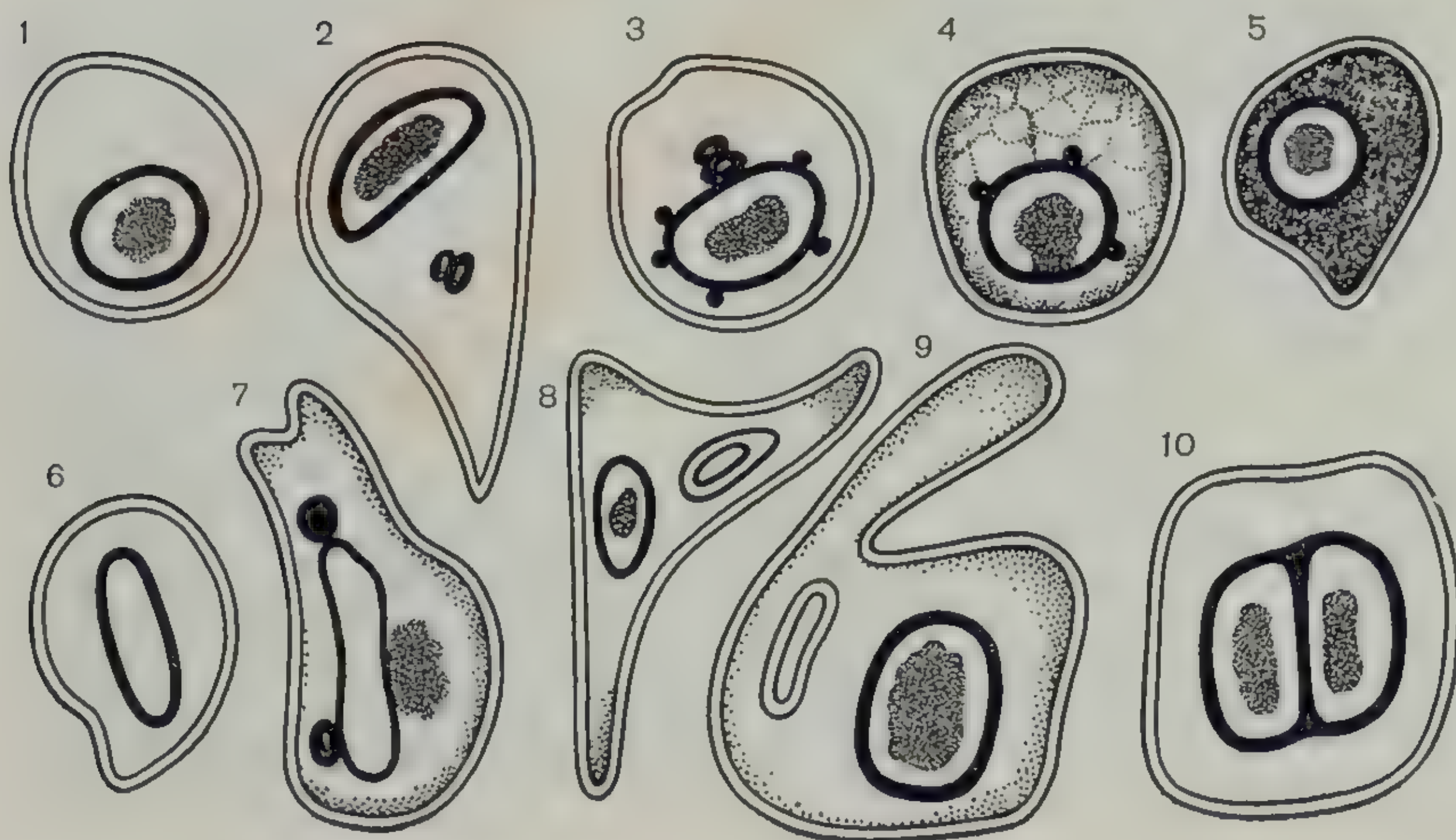
Второй тип гигантских внеклеточных онковирусов типа С характеризуется гигантской сферической или полигональной сердцевинкой диаметром до 200—300 нм (см. рис. 139). Размеры таких онковирусов достигают 350—400 нм. В популяции ряда онковирусов обнаружены внеклеточные не содержащие сердцевинки сферические частицы, диаметр которых приближается к размерам онковирусов (см. рис. 140).

Аномальные формы онковирусов типа D изображены на рис. 141—144. Наибольший интерес представляет обнаружение гигантских форм онковирусов типа D, их величина достигает в ультратонких срезах 300—400 нм, т. е. в несколько раз превышает диаметр обычных вирионов типа D. При этом в одном вирионе могут локализоваться и цилиндрическая сердцевина типа А, и несколько сердцевин типа D (см. рис. 143).

Внутри вирионов обнаруживаются вакуоли, рибосомы и даже фрагменты мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума.

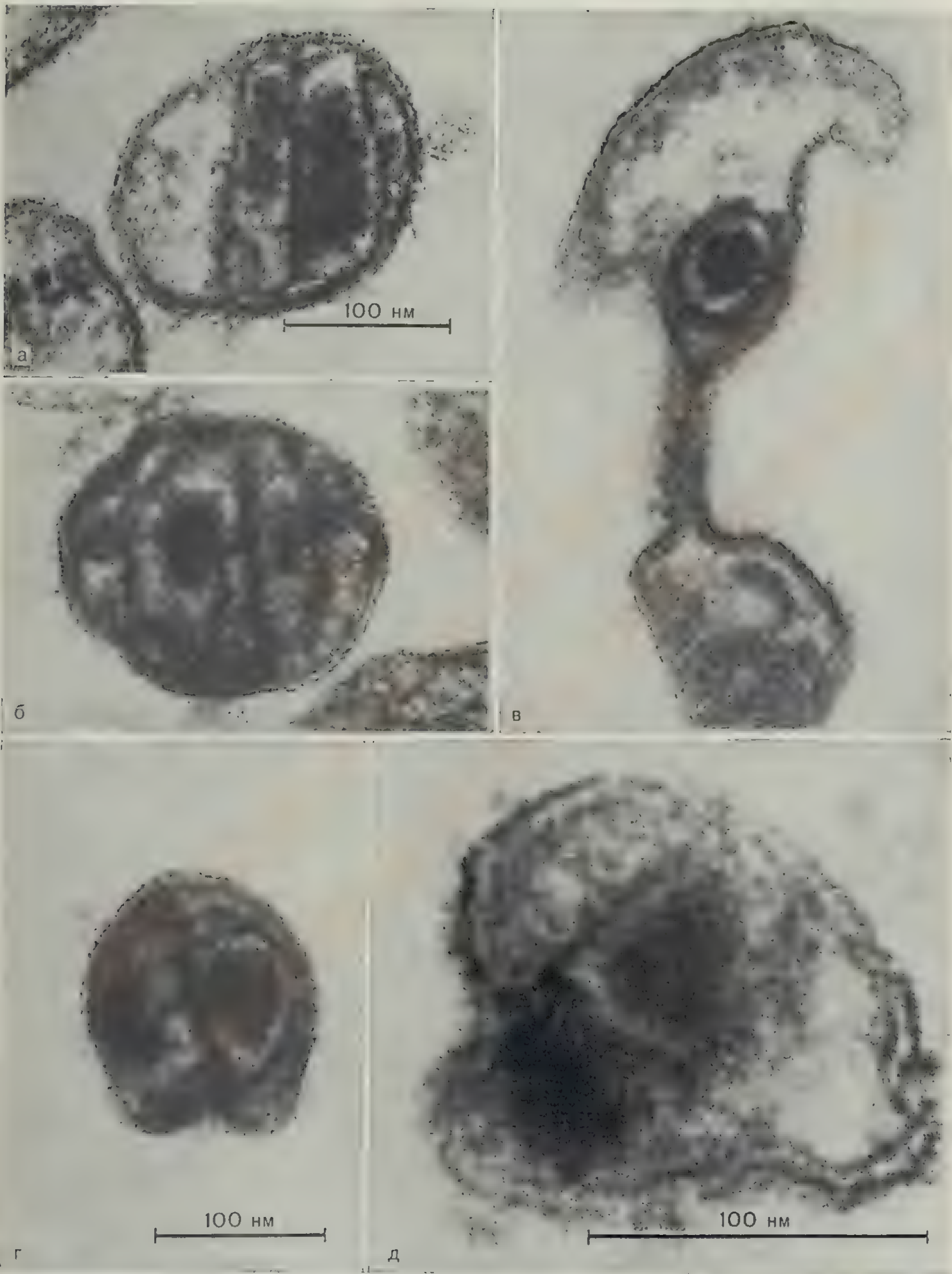
Одной из аномальных форм, имеющей исключительное значение для изучения биологии вирусов, являются так называемые двойные вирусы («дипло- или олиго-вирусы»), которые возникают в результате включения вируса или отдельных его компонентов в состав другого гомо- или гетерологичного вируса (последнее возможно только в условиях смешанной вирусной инфекции). Подобные аномальные формы были описаны для ряда инфекционных и онкогенных вирусов [Быковский А. Ф., 1965; Быковский А. Ф., Надточей Г. А., Миллер Г. Г., 1968; Надточей Г. А., 1969; Миллер Г. Г., 1969, 1972, 1976; Авакян А. А., Быковский А. Ф., 1970; Быковский А. Ф., Захалева В. А., Клицунова Н. В., 1975; Быковский А. Ф., Миллер Г. Г., 1978; Быковский А. Ф., Миллер Г. Г., Клицунова Н. В., 1979; Yotsuyanagi, 1977].

Несколько примеров формирования «двойных» гетерологичных вирусов приведено на рис. 145 и 146. При заражении вирусом осповакцины клеток Нер-2, в которых персистируют онковирусы типа А и D,



141. Основные типы аномалий (1—10) онковирусов типа D (схема).

142. Структура аномальных форм онковирусов
 типа D с двойными сердцевинами.
 а — г — ув. 300 000; д — ув. 600 000.



143. Структура аномальных гигантских полинуклеоидных форм онковирусов типа D. Ув. 300 000.

а—в—нарушение дифференцировки нуклеоида у внеклеточного вириона типа D; г — дипловирион, состоящий из компонентов цилиндрической сердцевинки типа А (Сц-А) и сердцевинки типа D (Сц-Д).

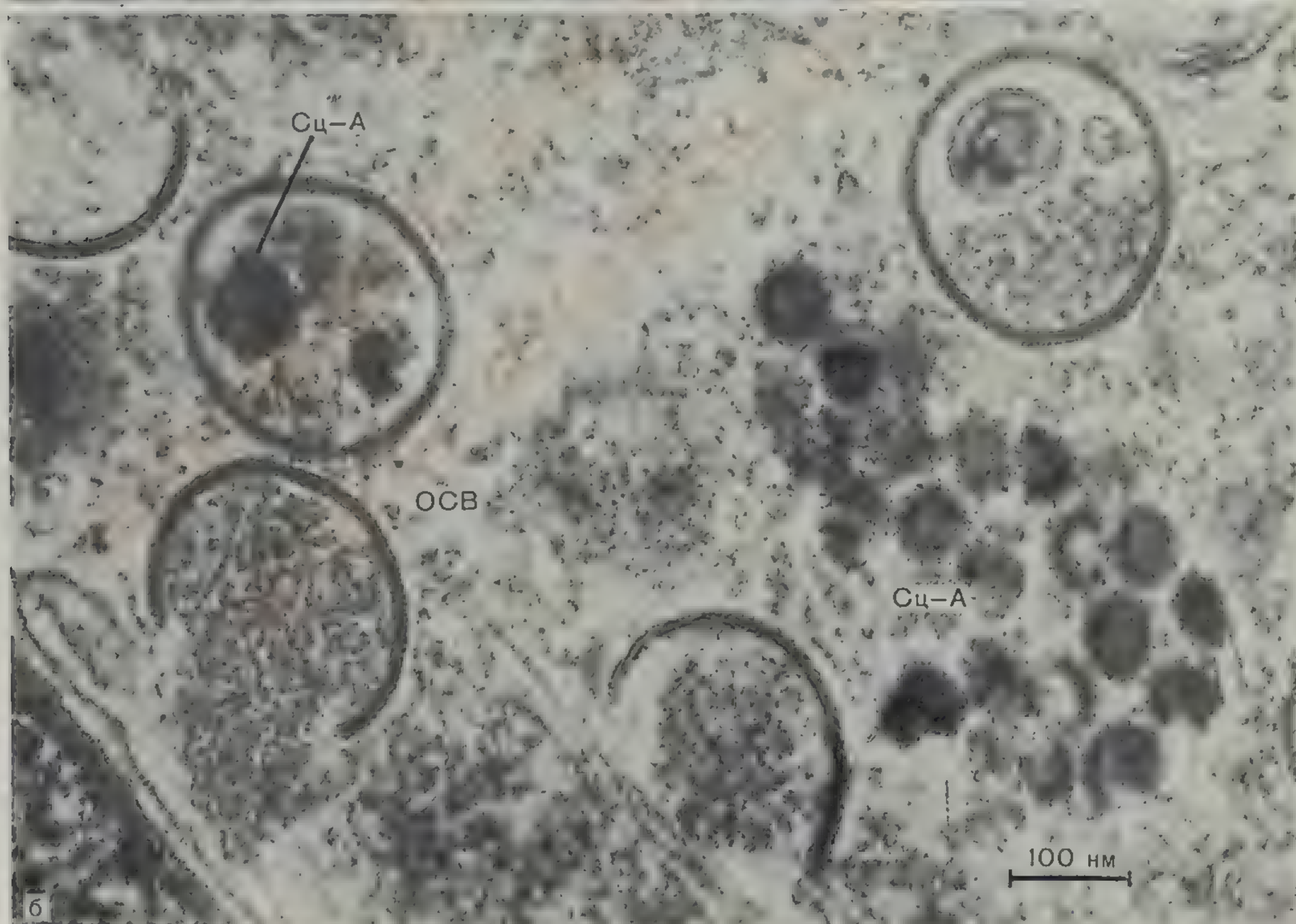
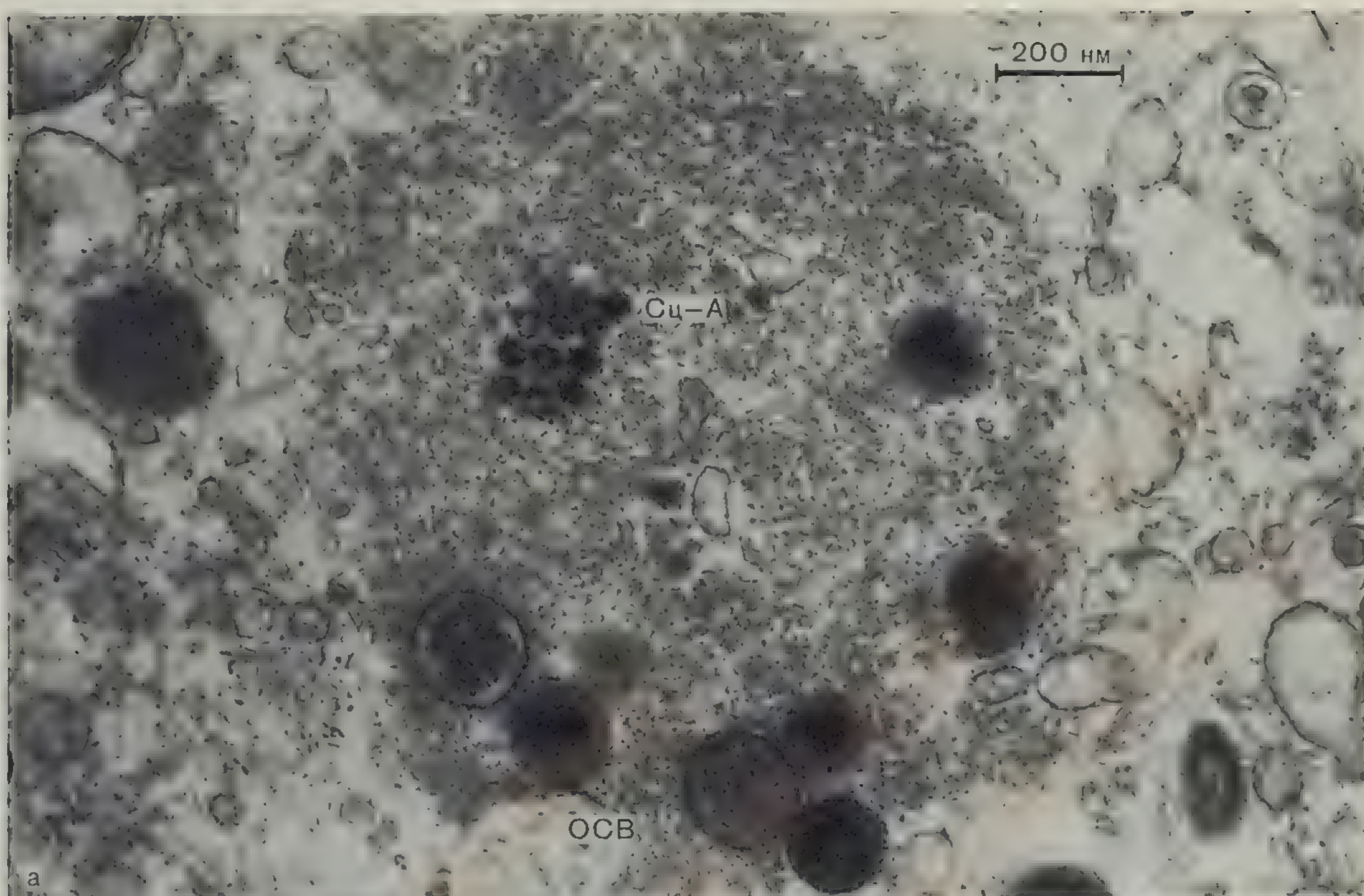


144. Ультраструктура гигантской формы
онковируса типа D. Негативное
контрастирование. Ув. 600 000.



145. Структура «двойных» гетерологичных вирусов.
Ультратонкие срезы.

а — одновременное формирование сердцевин онковируса типа А (Сц-А) и осповакцины (ОСВ) в цитоплазме клетки НЕР-2. Ув. 80 000; б — включение сердцевин онковируса типа А в формирующийся вирион осповакцины. Ув. 180 000.



146. Структура «двойных» гетерологичных вирусов.
Ультратонкие срезы.

а, б — незаконченное формирование сердцевин
онковируса типа А (СцА) и респираторно-
синцитиального вируса (РС). Ув. 250 000; в —
гетерологичный внеклеточный вирион онковируса
типа А и РС-вируса. Ув. 350 000; г —
гетерологичный внеклеточный вирион,
содержащий сердцевинки спумавируса (СпВ)
и РС-вируса. Ув. 300 000.



в зоне виропласта осповакцины локализируются скопления формирующихся и сформированных сердцевин типа А, которые могут захватываться формирующимися провирсомами вируса осповакцины. «Двойные» гетерологичные формы респираторно-синцитиального вируса человека и онковируса типа А(Д) представлены на рис. 146 а—в, а респираторно-синцитиального вируса и пеящего вируса обезьян — на рис. 146 г.

Гетерологичные вирусы, формирующиеся из цистерनावирусов и R-вируса хомяков, были описаны Yotsuyanagi (1977) в гибридных клетках меланомы хомяка и фибробластов мыши. Две гетерологичные сердцевинки локализовались под одной оболочкой; диаметр подобных вирусов был несколько больше (110—140 нм), чем одних цистерनावирусов (85—110 нм). Они составляют не менее 1—3% общего числа всех вирусов, а реальное их количество, по мнению автора, должно достигать 10—15%, так как гетерологичные вироны можно установить в ультратонких срезах лишь при определенной ориентации. Обнаружение «двойных» гетерологичных вирусов служит одним из экспериментальных подтверждений предполагаемой роли вирусов в обмене генетической информации в биосфере [Ирлин И. С., Быковский А. Ф., Ждапов В. М., 1973; Ждапов В. М., Тихоненко Т. И., 1974]. В первой из этих работ авторы в 1973 г. высказали предположение о том, что интеграция целых или фрагментов геномов онкогенных вирусов (вирогенов: генома ДНК-содержащего вируса или ДНК-транскрипта РНК-содержа-

щего вируса) в генетический аппарат эукариотической клетки может оказаться полезной для популяции вида, так как а) наличие вирогена может обеспечить защиту клетки от инвазии сходным вирусом (по аналогии с умеренным профагом бактериальной клетки против инфекции вирулентным фагом), б) ассимилированные вирогены могут играть роль в процессах регенерации и дифференцировки, сопровождающихся обратимой незлокачественной трансформацией клеток. В процессе онто- или филогенеза организма часть вирогенов могла полностью утратить способность к индукции, приобретая при этом функции «клеточных» генов. Интеграция онкогенных вирусов является частным случаем интеграционных процессов, распространенных у прокариотов и эукариотов, и, следовательно, вирусы могут рассматриваться как посредники генетического обмена в биосфере и тем самым как важные факторы эволюции жизни на земле.

Роль переносчиков генетической информации в эволюционном процессе могут выполнять также так называемые «псевдовirus» — гибридные комплексы, состоящие из вирусной нуклеиновой кислоты и клеточного белка [Ждапов В. М. и др., 1969], либо «псевдовироны» — фрагменты клеточной ДНК, одетой в вирусную оболочку [Aposhian H., 1975]. Псевдовироны включают молекулы ДНК, синтезированные как до, так и после заражения клеток вирусом. Начальные этапы инфекции (адсорбция, внедрение и «раздевание») псевдовироны проходят аналогично обычным вирусам.

Х. ПАПОВАВИРУСЫ

Названия семейства *Parovaviridae* образовано из первых слогов названий вирусов: па — папилломы (papilloma) вирус, по — полиомы (polyoma) вирус и ва — вакуолизирующий вирус ОВ-40 (SV-40).

Вирионы паповавирусов адсорбируются на поверхности клетки и затем проникают в нее в процессе фагоцитоза (рис. 147). В дальнейшем, по мнению одних авторов [Maraldi et al., 1975], вирионы перемещаются в ядро клетки через поры ядерной оболочки, по мнению других [Maul et al., 1978], — при слиянии оболочек вируссодержащих фагосом с наружной мембраной оболочки ядра инфицированной клетки.

Цикл репродукции паповавирусов идет в ядрах инфицированных клеток позвоночных, вирусная ДНК синтезируется в ядрах через 10—12 ч после заражения, белки вирусных капсидов синтезируются в цитоплазме и через 3—6 ч после начала синтеза вирусной ДНК транспортируются в ядро клетки; первые вирионы формируются через 24 ч после заражения (рис. 148). В ядрах инфицированных клеток выявляются как диффузные, так и кристаллоподобные скопления паповавирусов, которые выделяются из клетки при ее деструкции (рис. 149). Впеклеточные паповавирусы могут адсорбироваться на мембранных клеточных структурах.

Вирионы паповавирусов представляют собой икосаэдрические частицы диаметром 45—55 нм с молекулярной массой $25\text{--}47 \cdot 10^6$. Вирусный капсид построен из 72 капсомеров, представляющих собой полые цилиндры длиной 7,5—9 нм (рис. 150, 151).

Геном паповавирусов представлен циклической молекулой двухнитчатой ДНК с молекулярной массой $3\text{--}5 \cdot 10^6$, что составляет 10—12% массы вириона. Минихромосомы паповавирусов состоят из 21 нуклеосомы [Griffith, 1975; Christiansen et al., 1977] и занимают внутри вириона объем $1,3\text{--}1,7 \cdot 10^4$ нм³. На рис. 152 изображена предполагаемая супрамолекулярная организация сердцевин паповавируса. Martin (1977), приняв модель нуклеосомы, предложенную Baldwin и соавт. (1975), с модификацией Weintraub и соавт. (1976), предложил следующую модель структуры

сердцевин паповавируса. Двадцать прилежащих друг к другу сфер (гистонов) диаметром 7 нм уложены по вершинам додекаэдра диаметром 26 нм. Одна сфера располагается внутри додекаэдра. Молекула вирусной ДНК (диаметром 2 нм) уложена вокруг каждой нуклеосомы и образует левовращающую спираль. Каждая пентамерная поверхность сердцевин лежит непосредственно под пентопом капсида (см. рис. 152).

Трубчатые формы паповавирусов (рис. 153) имеют диаметр 30 или 50 нм [Kiselev, Klug, 1969].

Изучение ДНК полиомавирусов завершилось в конце 70-х годов расшифровкой нуклеотидных последовательностей ДНК ОВ-40 [Reddy et al., 1978; Firs et al., 1978], а затем вируса полиомы и ВК. Составлена физическая карта ДНК полиомавирусов [Nathans, 1976; Sambrook, 1978].

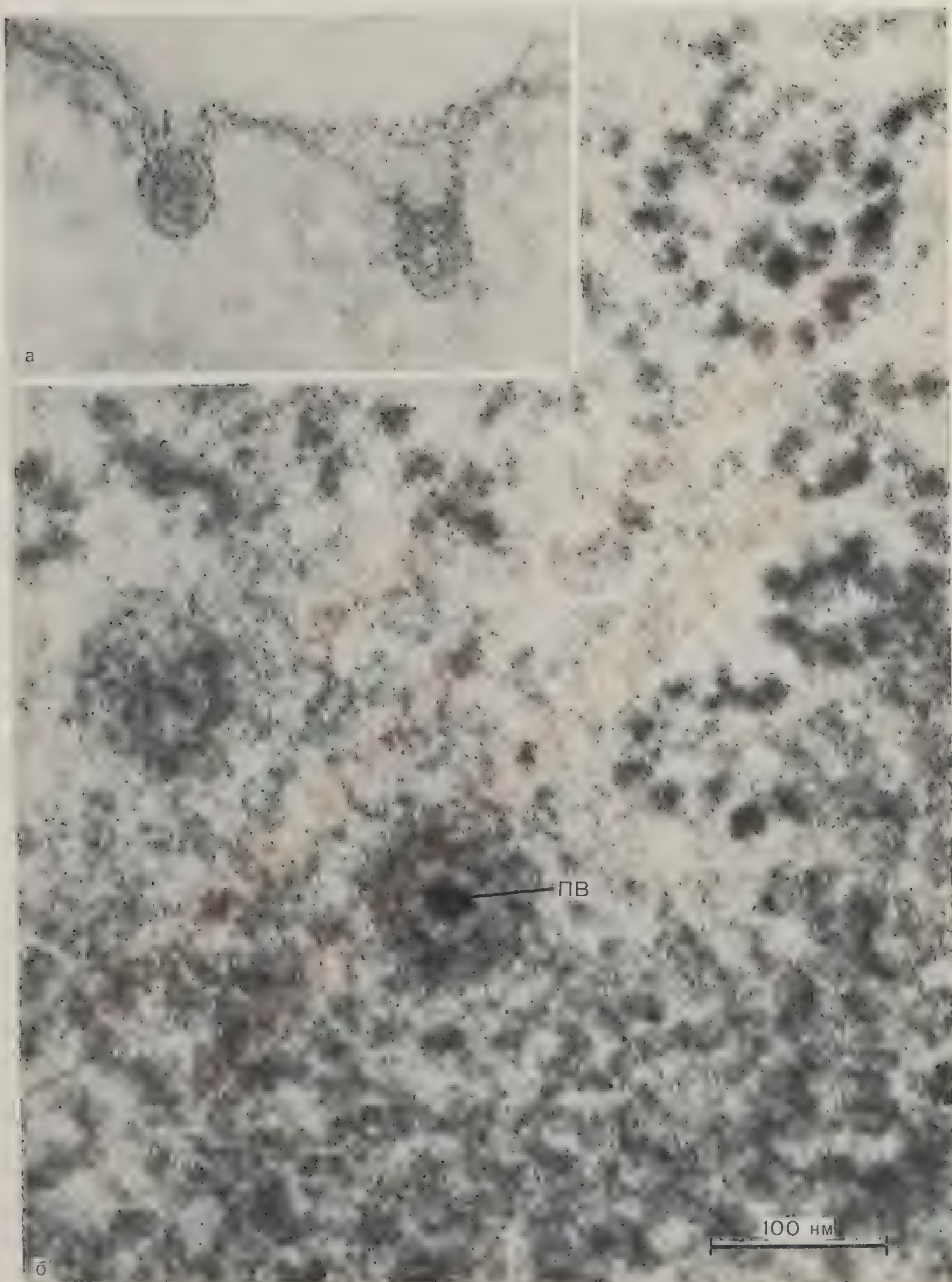
Большое внимание привлекают новые паповавирусы, которые чаще всего выделяют от людей с врожденной или приобретенной иммунодефицитностью [вирусы ВК, JC], из мозга больных с прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатией (вирус JC, PML). Эти вирусы широко распространены среди людей, вызывают опухоли у животных и способны трансформировать *in vitro* клетки человека. Описано несколько случаев выделения этих вирусов из опухолей человека [Castaigne et al., 1974; Takemoto et al., 1978; Шевлягин В. Я. и др., 1981].

Выделен новый вирус, ассоциированный с раком пищеварительного тракта коров [Campo et al., 1980]; в эпидермодиспластических поражениях кожи человека обнаружен новый папилломатозный вирус [Yutsudo et al., 1982]. Потенциально онкогенный вирус папилломы человека обнаружен у двух реципиентов с пересаженной почкой при раке кожи Боуэна *in situ* [Lutzner et al., 1980].

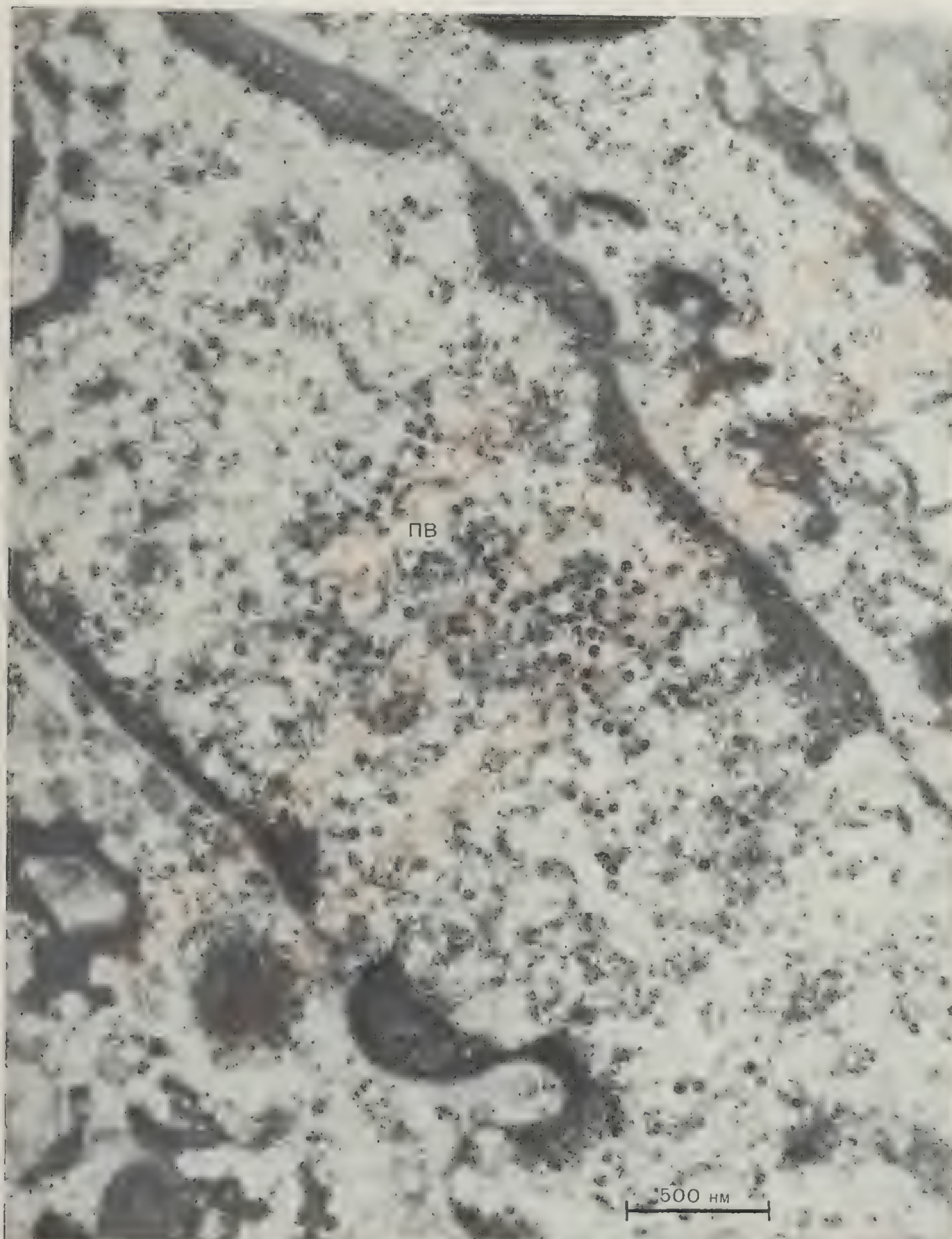
Новые возможности для изучения роли вирусов папова в индукции первичных опухолей человека открывают работы, показавшие возможность существования ДНК вируса в эписомной форме в трансформированных вирусом ВК клетках мозга человека [Takemoto et al., 1979].

147. Адсорбция и проникновение паповавирусов
в клетку. Ув. 300 000.

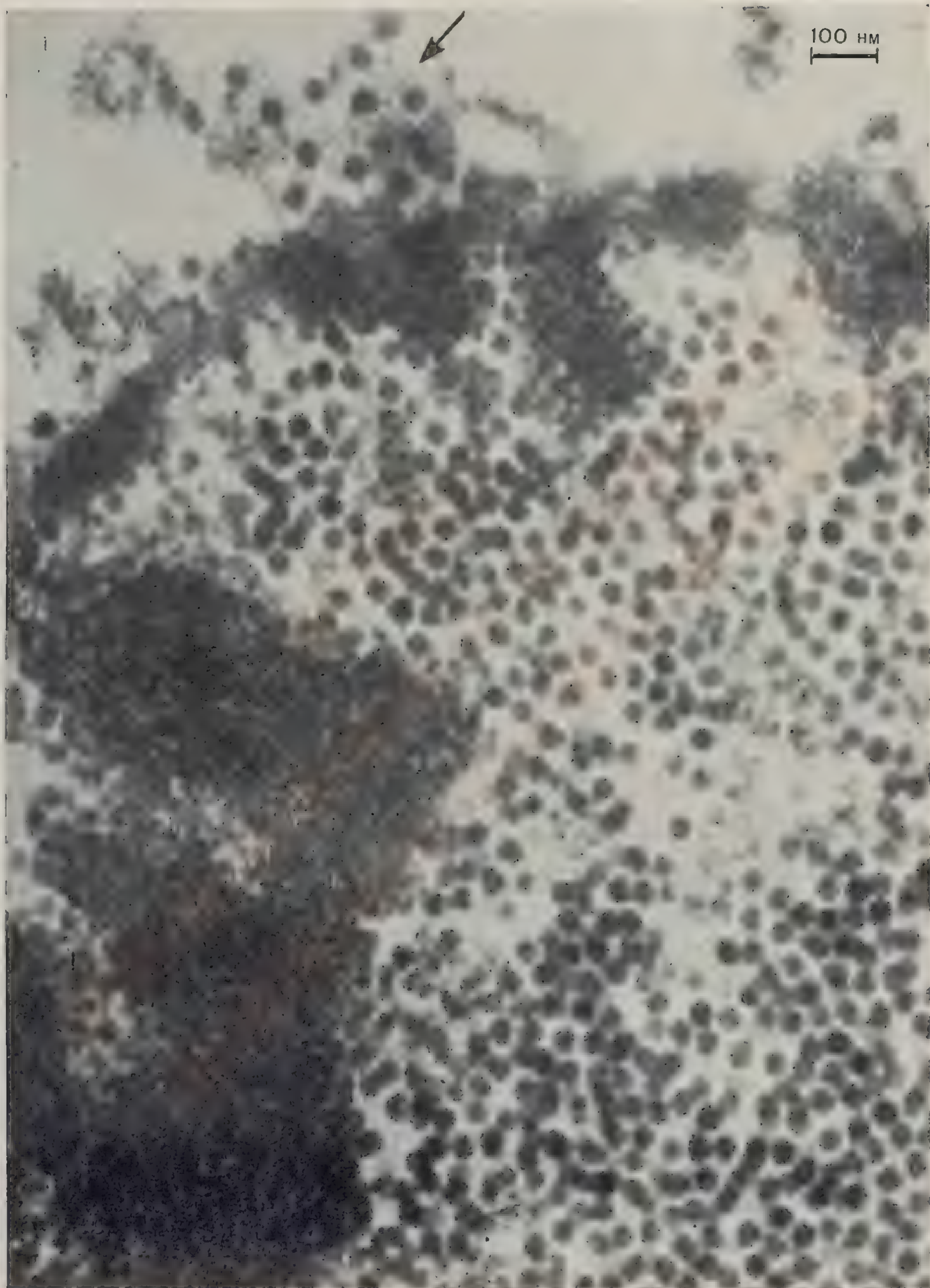
а — ранняя стадия проникновения вируса ОВ-40
в цитоплазму; б — проникновение вируса (ПВ)
в ядро клетки через пору в ядерной оболочке.



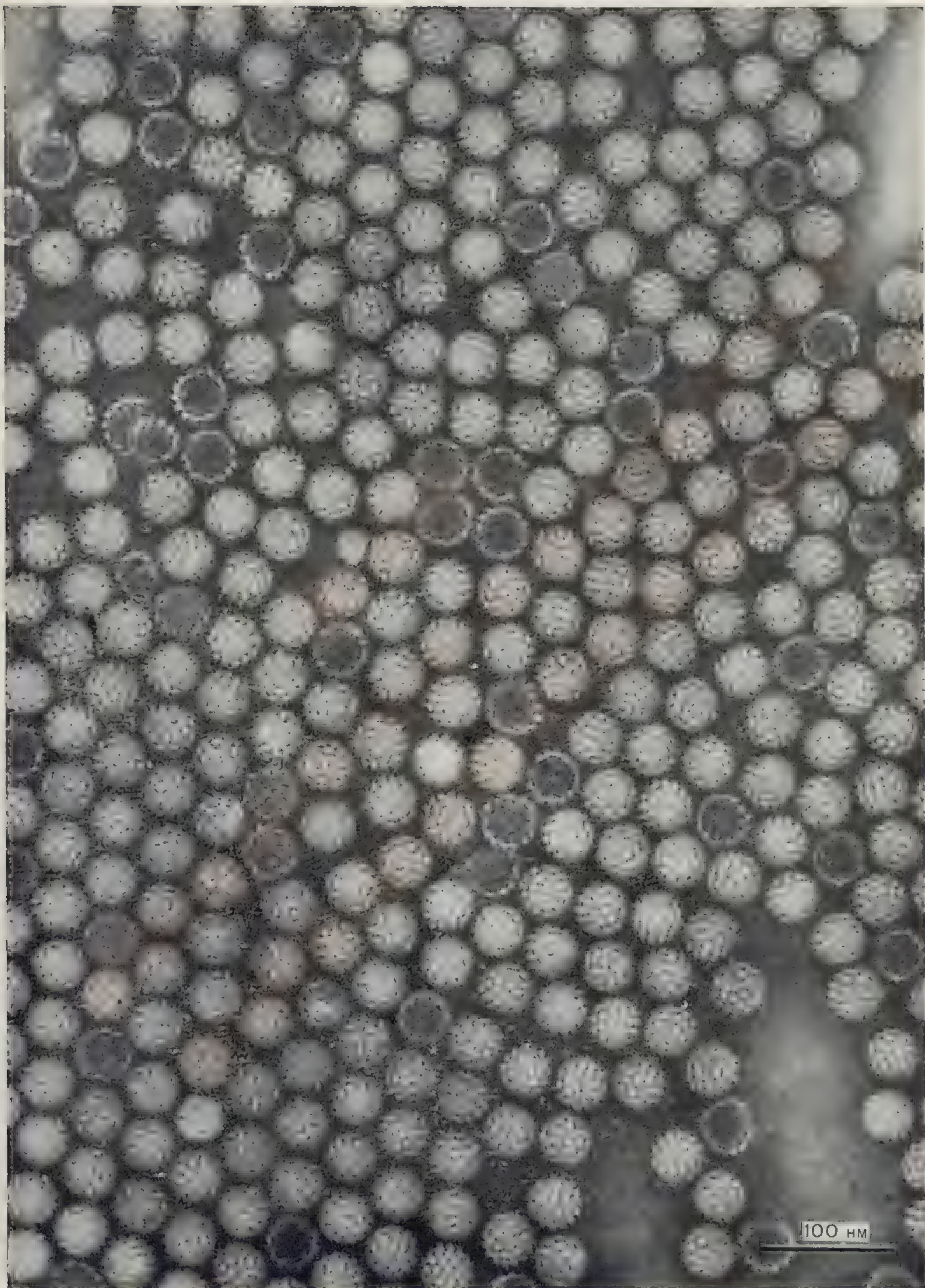
148. Скопление паповавирусов (ПВ) в ядре клетки
при генитальном папилломатозе человека
(фотография Bowen et al., 1979). Ув. 60 000.



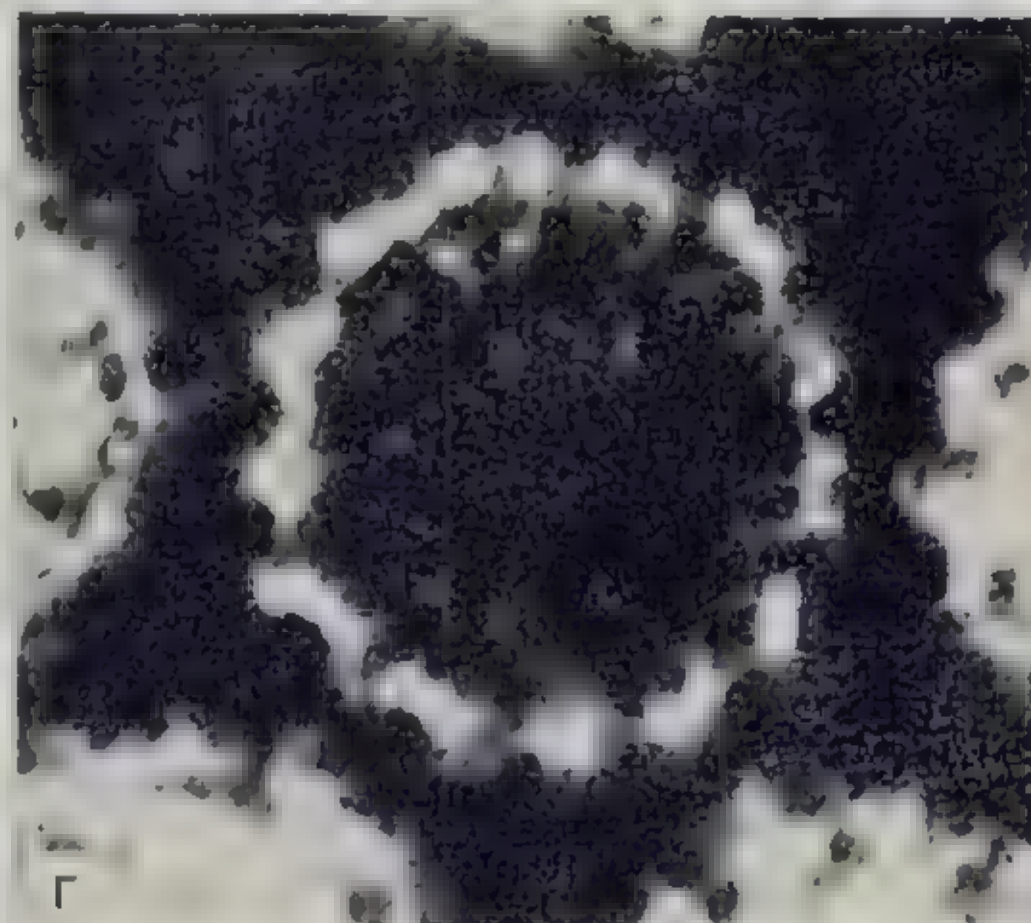
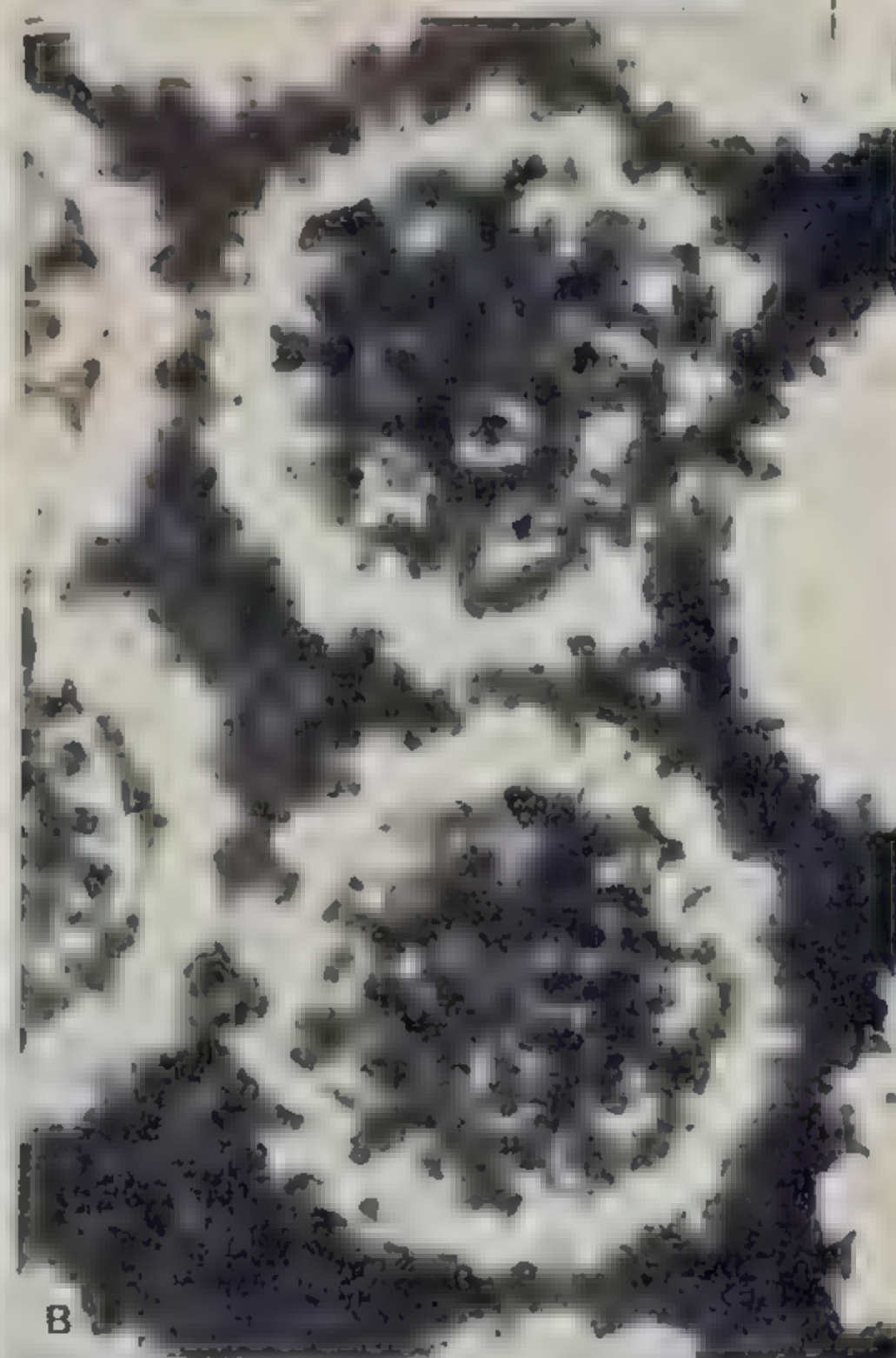
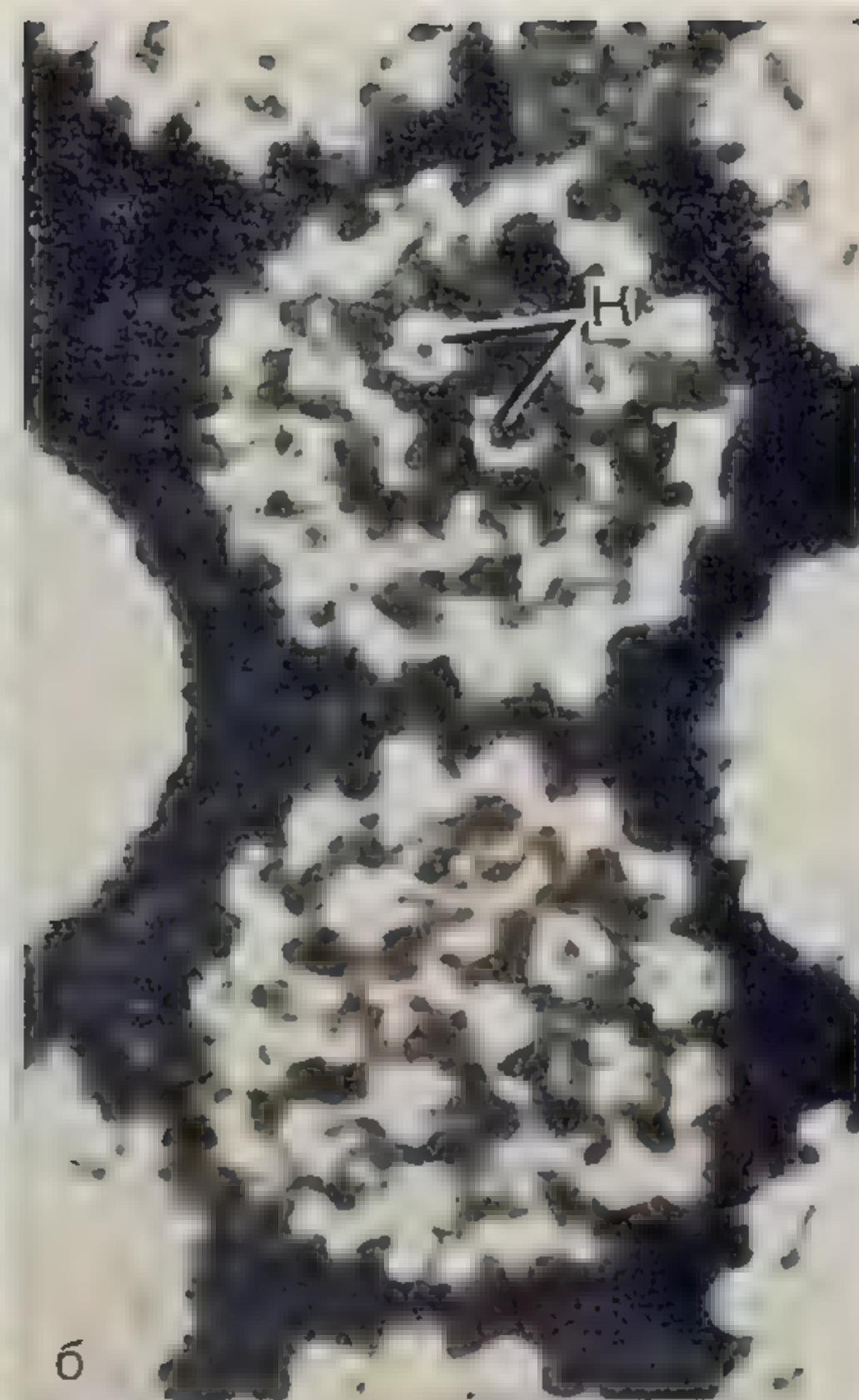
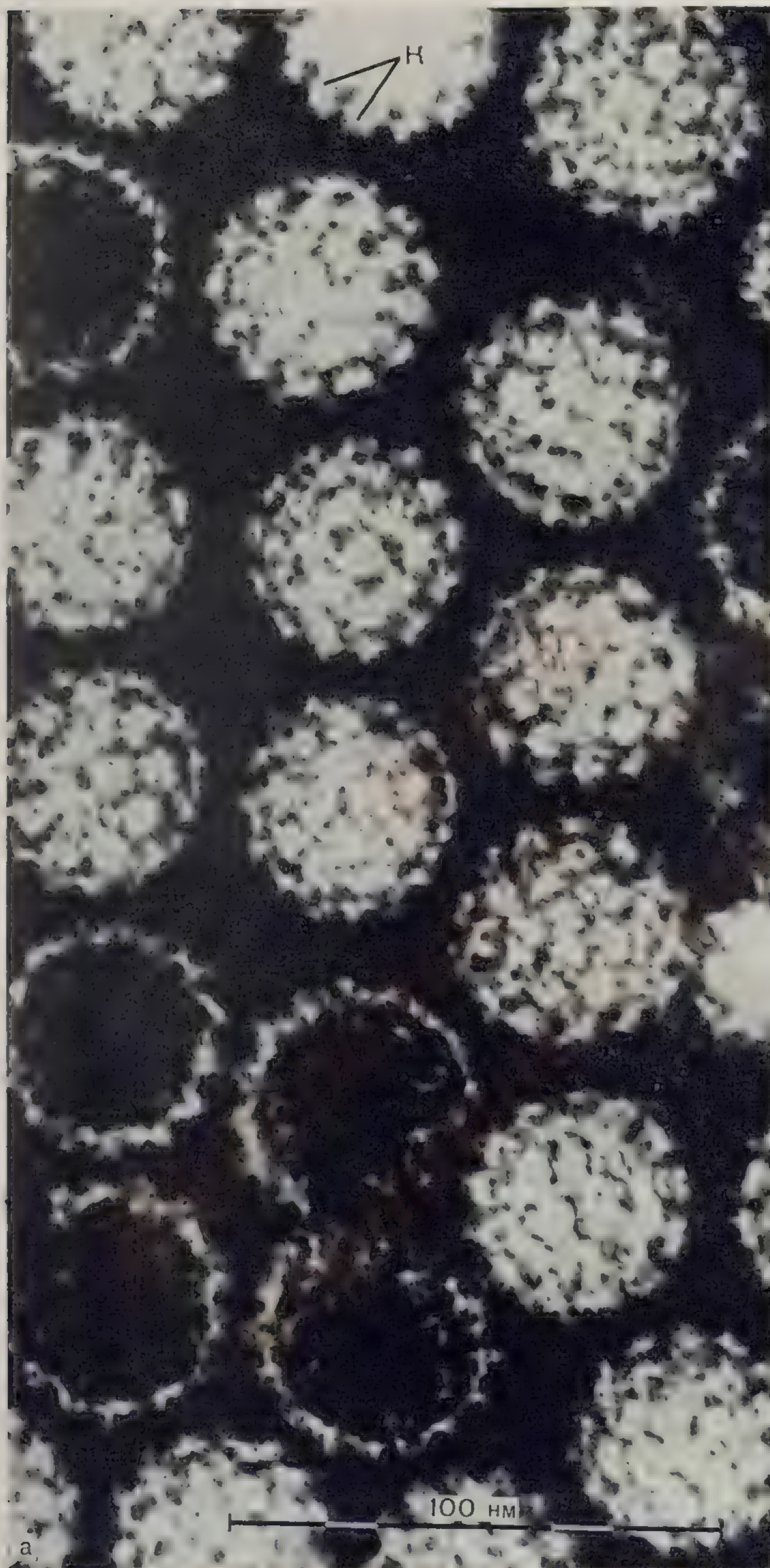
149. Выделение скопления паповавирусов
(вируса ОВ-40) из ядра инфицированной
клетки (указано стрелкой). Ув. 130 000.



150. Структура вируса папилломы человека,
негативное контрастирование (фотография
Н. А. Киселева). Ув. 250 000.



151. Ультраструктура вирусов (а—г) папилломы человека (негативное контрастирование).
Ув. 700 000.
К — капсомеры.

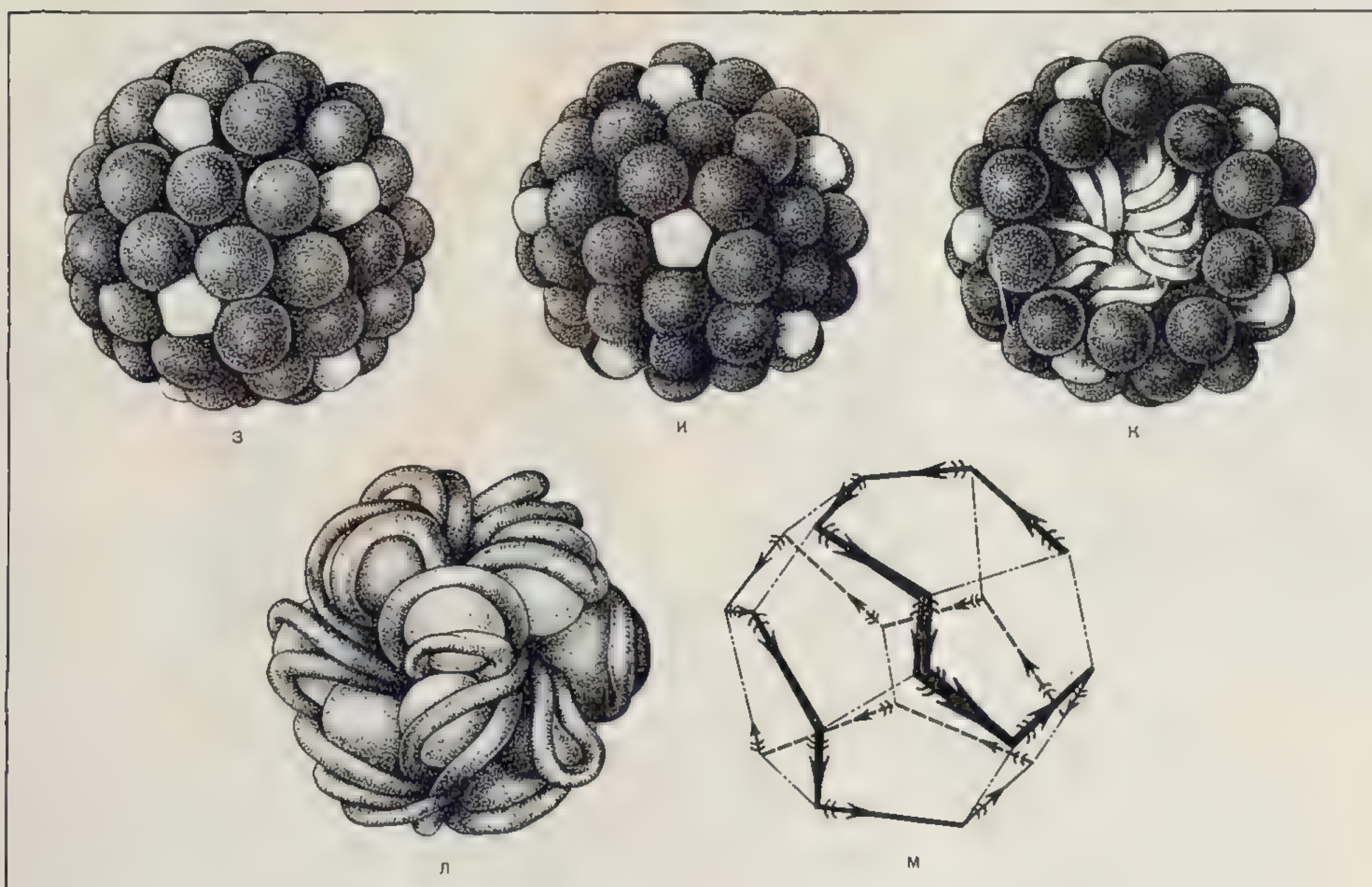
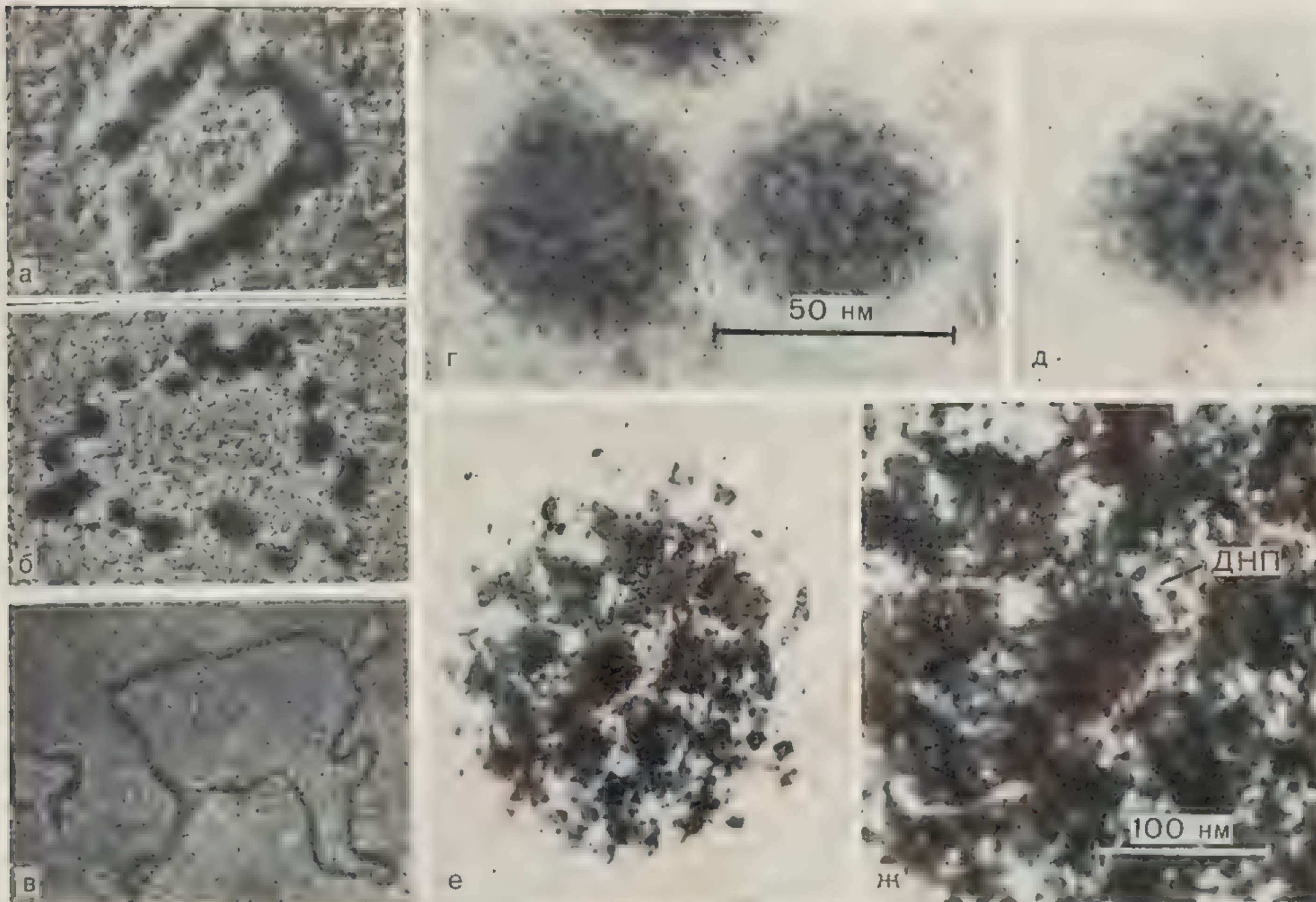


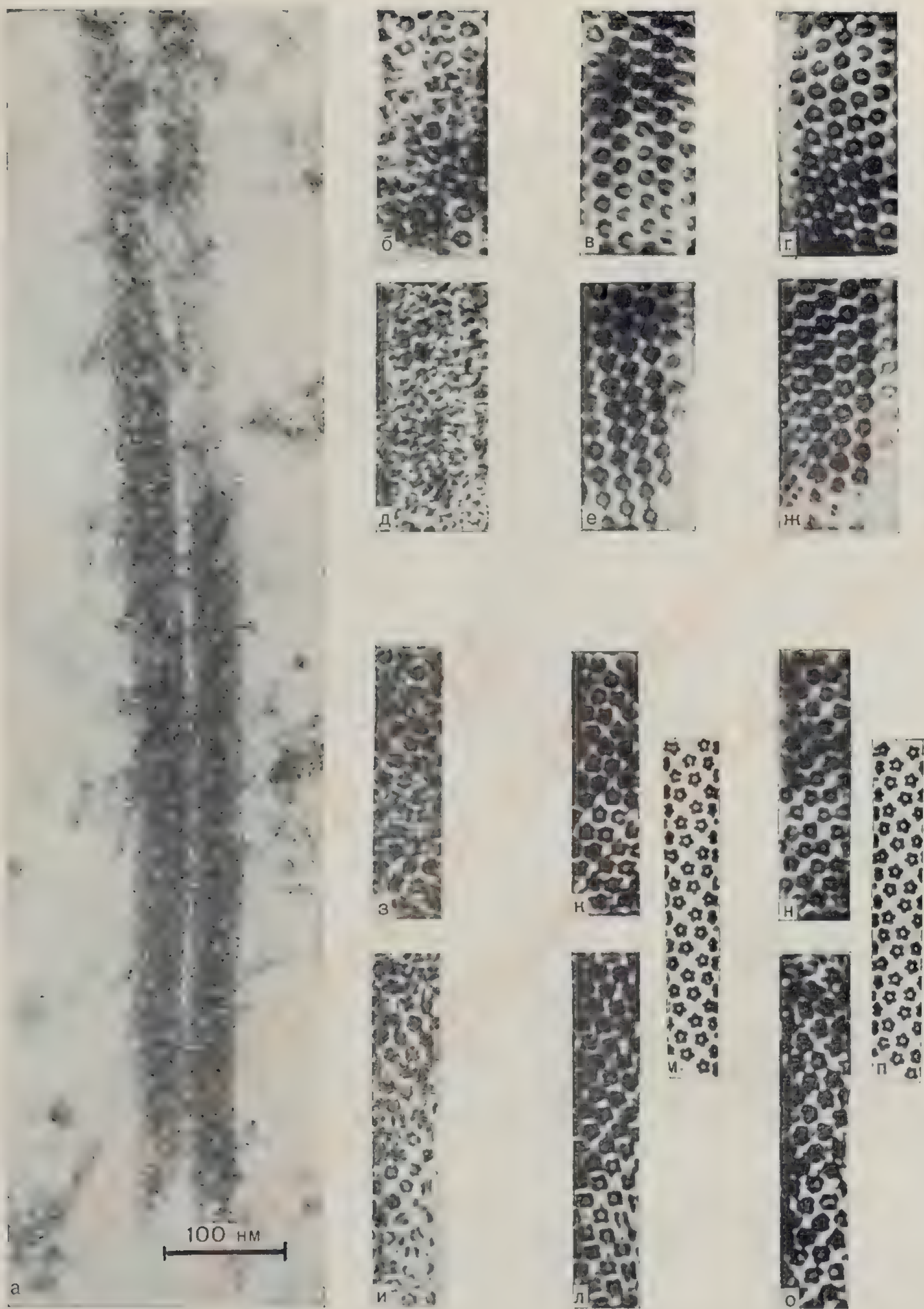
152. Супрамолекулярная организация
паповавирусов (по Griffith, 1975).

а, б, в — высокоразрешающие микрофотографии
минихромосомы ОВ-40 в ее нативном (а),
«бусовидном» (б) и депротенинизированном (в)
состоянии [Griffith, 1975].

а — нативные минихромосомы ОВ-40 выглядят как
петли-волокна диаметром 11 нм и длиной 210 нм;
б — десятикратное уменьшение поперечной силы
приводит к релаксации волокна в гибкую нить с
21 бусиной, каждая из которых имеет диаметр
11 нм. Бусины соединены мостиком диаметром

2 нм и длиной 13 нм, г—ж — ультраструктура
упаковки ДНК вируса ОВ-40 (ультратонкие
срезы); г, д — ув. 600 000, е — ув. 1 200 000, ж —
ув. 2 200 000; з—м—модель капсида ОВ-40 и
предлагаемая модель сердцевинки [Martin, 1977].
з — вид капсида вдоль оси третьего порядка,
показывающий (правую) ориентацию капсомеров
в икосаэдре. Темные шары соответствуют
гексонам, светлые — пентамерам.
и — вид капсида вдоль оси пятого порядка;
к — тот же вид, что з, но пять верхних
гексамеров и пентамер удалены для
демонстрации сердцевинки; л — модель сердцевинки;
М — расположение ДНК в сердцевине.





153. Трубчатые формы вируса полиомы — ультратонкий срез (а) и вируса папилломы человека — негативное контрастирование (б—п; фотографии Н. А. Киселева); б, д — нефильтованное изображение; в, г, е, ж — оптически фильтрованные односторонние изображения двух широких трубчатых форм вируса; в, е, — «ближайшая» сторона; г, ж — «удаленная» сторона; з—п — электронные микрографии и фильтрованные изображения узких трубчатых форм вируса; з, и — нефильтованные изображения; к, л — «ближайшая» сторона; и, о — «удаленная» сторона; м, п — созданные компьютером изображения модельной структуры. а — ув. 300 000; б—п — ув. 400 000.

г, ж — «удаленная» сторона; з—п — электронные микрографии и фильтрованные изображения узких трубчатых форм вируса; з, и — нефильтованные изображения; к, л — «ближайшая» сторона; и, о — «удаленная» сторона; м, п — созданные компьютером изображения модельной структуры. а — ув. 300 000; б—п — ув. 400 000.

XI. АДЕНОВИРУСЫ

Вирионы аденовирусов (рис. 154—156) имеют икосаэдрическую форму, диаметр их равен в ультратонких срезах 85,6 нм, при негативном контрастировании — 86,16 нм; молекулярная масса равна $170 \cdot 10^6$; объем вириона составляет $3,29 \cdot 10^5$ нм³; объем субкапсомерного пространства — $1,35 \cdot 10^5$ нм³ [Brown et al., 1975]. Вирусный капсид построен из 252 капсомеров (240 гексонов и 12 пентонов). Гексон представляет собой коническую призму с основанием 8,6·9,8 нм и вершиной диаметром 7,4 нм. Средняя длина гексона составляет 11 нм [Nermut, 1975], в ультратонких срезах — 10,5 нм, при замораживании — скалывании — 12 нм [Brown et al., 1965]. Пентоны расположены на вершинах икосаэдра и состоят из основания (диаметром 8 нм), отростка (длиной от 9 до 31 нм в зависимости от серотипа аденовируса) и концевой шарикоподобной структуры диаметром 4 нм (см. рис. 155).

Аденовирусная ДНК представляет собой линейную двухспиральную молекулу длиной 10—12 мкм с молекулярной массой $20—25 \cdot 10^6$. Вирионный хроматин аденовируса имеет структуру нуклеосом [Brown, Weber, 1980], функции гистонов выполняют белки V и VII. В сердцевинах (диаметром 66—67 нм) обнаружены скопления сферических частиц диаметром 9—10 нм [Brown et al., 1975] либо палочковидные элементы толщиной 15 нм и длиной 30—40 нм.

Вирионы аденовирусов проникают в клетку в процессе фагоцитоза [Chardonnet, Dales, 1970], затем в течение 1 ч транспортируются, по-видимому, с помощью микротрубочек [Dales, Chardonnet, 1973], через цитоплазму к порам в оболочке клеточного ядра. Вирусная ДНК синтезируется в глубине ядра инфицированной клетки [Shiroki et al., 1974], структурные белки — в цитоплазме: синтез и освобождение с рибосом полипептидов гексона занимает 3—4 мин, пентона — 2 мин; однако для завершения сборки пентона требуется не-

сколько часов [Horwitz et al., 1969]. Обнаружены последовательные этапы формирования вирионов аденовирусов в нуклеоплазме инфицированных клеток (рис. 157), что совпадает с данными о последовательном антигенном созревании аденовирусного капсида [Edvardsson et al., 1976].

Вначале образуется промежуточный продукт, содержащий капсид, сердцевину и белки-предшественники P-VI и P-VII, затем формируются «молодые вирионы», содержащие как предшественники, так и зрелые белки, и, наконец, — зрелые вирионы, которые содержат только зрелые полипептиды VI и VII. Составлена генетическая карта аденовируса [Pettersson et al., 1976], в которой структурные гены распределены по всему асимметричному геному вируса.

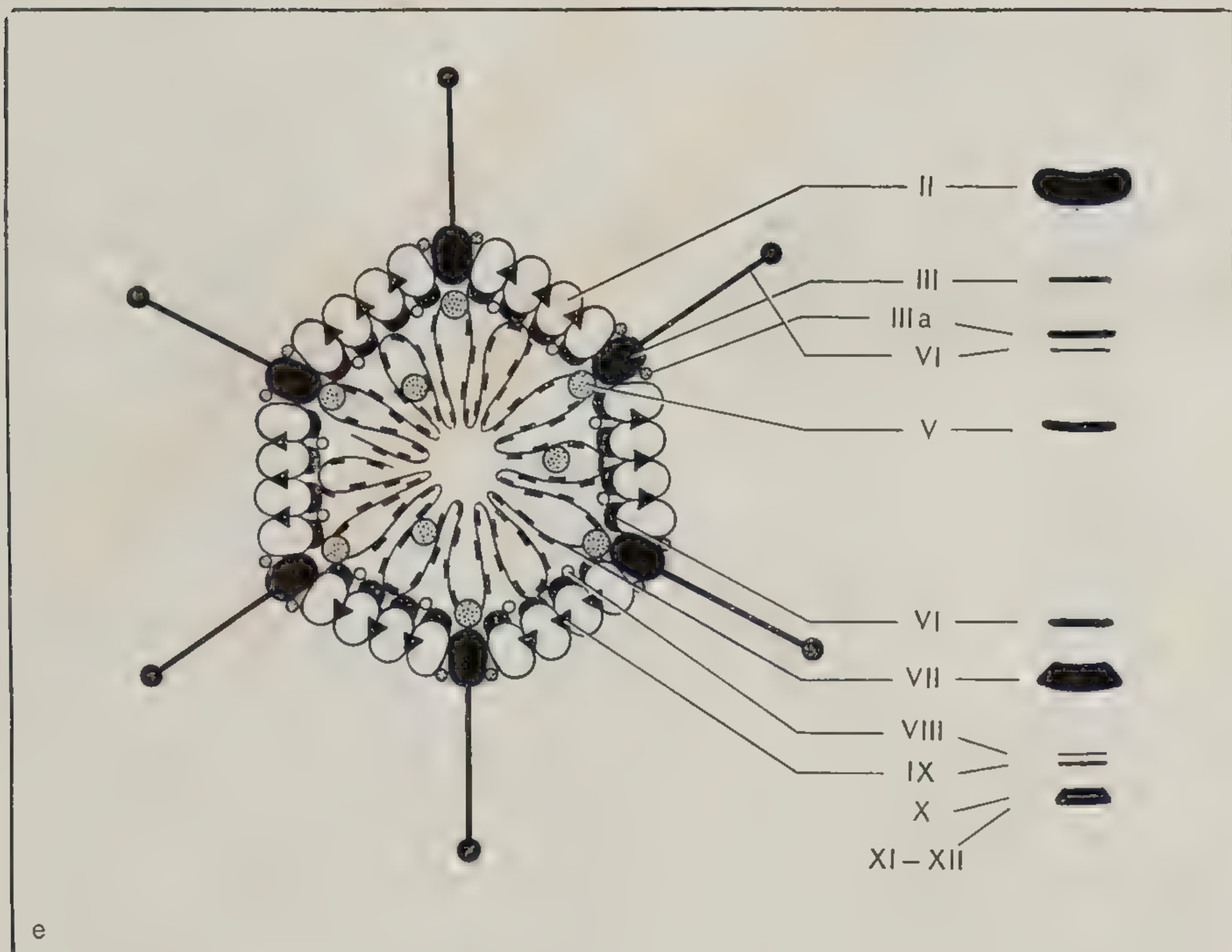
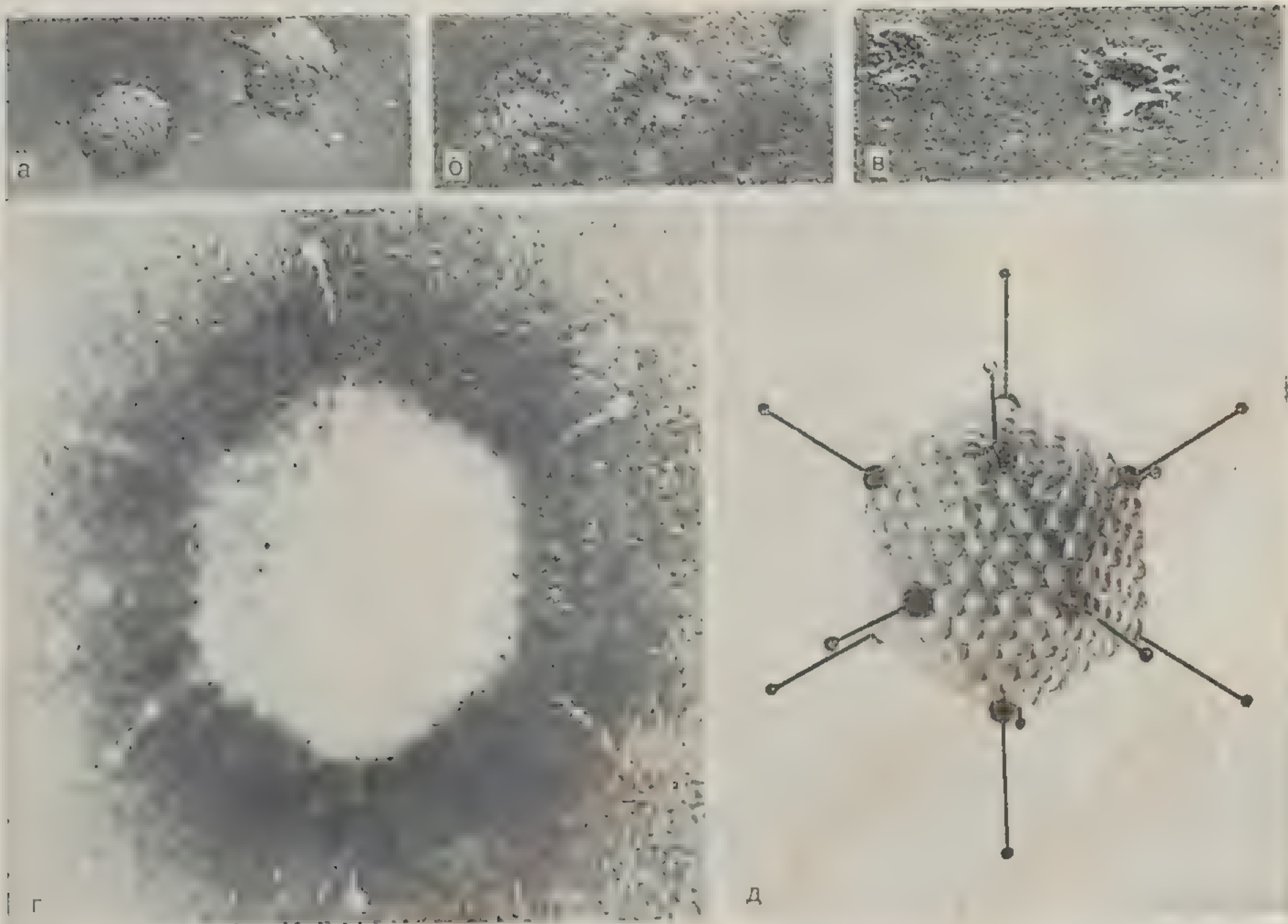
При взаимодействии с клеточными системами продуктивная (литическая) инфекция осуществляется только в клетках природного хозяина. Клетки перmissive или полуперmissive для их размножения могут быть трансформированы этими вирусами. Вирусная ДНК или ее специфические фрагменты величиной 6—8% от полного генома трансформируют клетки *in vitro* [Graham et al., 1977]. По-видимому, ранними трансформирующими белками, кодируемыми аденовирусами, могут быть полипептиды с молекулярной массой 53 и/или 15 кД [Gilead et al., 1976; Levis et al., 1976].

Прямых доказательств роли аденовирусов в возникновении опухолей у людей в настоящее время не получено. Однако описано непосредственное выделение аденовирусов из опухолей ЦНС человека [Ibelgauts, 1982].

Длительное пассирование человеческого аденовируса 12 в линии клеток меланомы человека Nki-4 приводит к селекции мутантного вируса, обладающего преимуществом в росте и имеющего вставки в ДНК размером от $2,5$ до $9,0 \cdot 10^5$ д, которые происходят из ДНК клеток меланомы [Reinke et al., 1980].

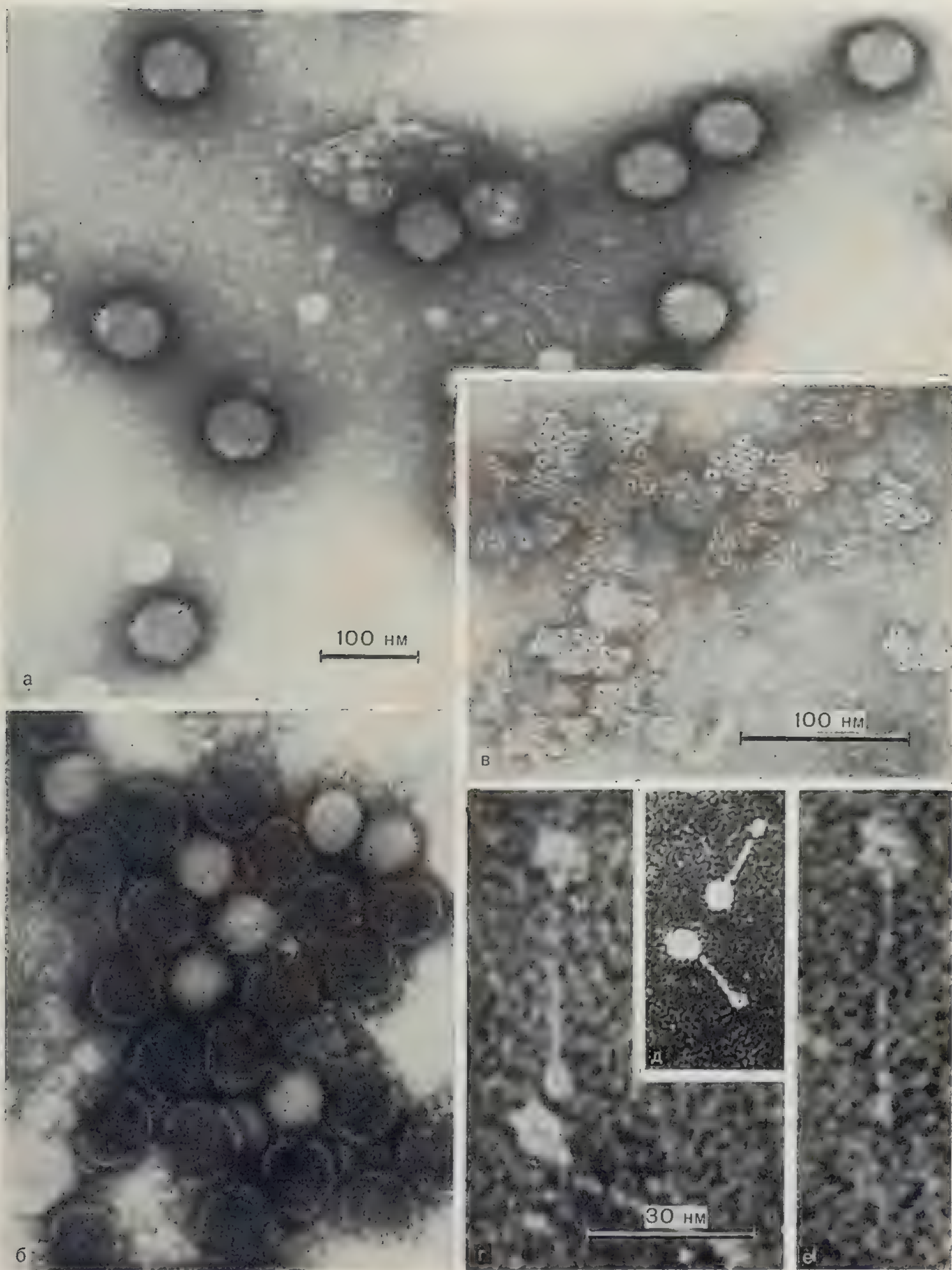
154. Супрамолекулярная организация аденовируса.

а—в—ультраструктура аденовируса типа 6 (метод замораживания — скалывания). Ув. 170 000 [Григорьев В. В. и др., 1977]; г — негативное контрастирование; д — модель аденовируса [Valentine, Pereira, 1965]; е — уточненная топографическая модель аденовируса типа 2 [Everitt et al., 1975].

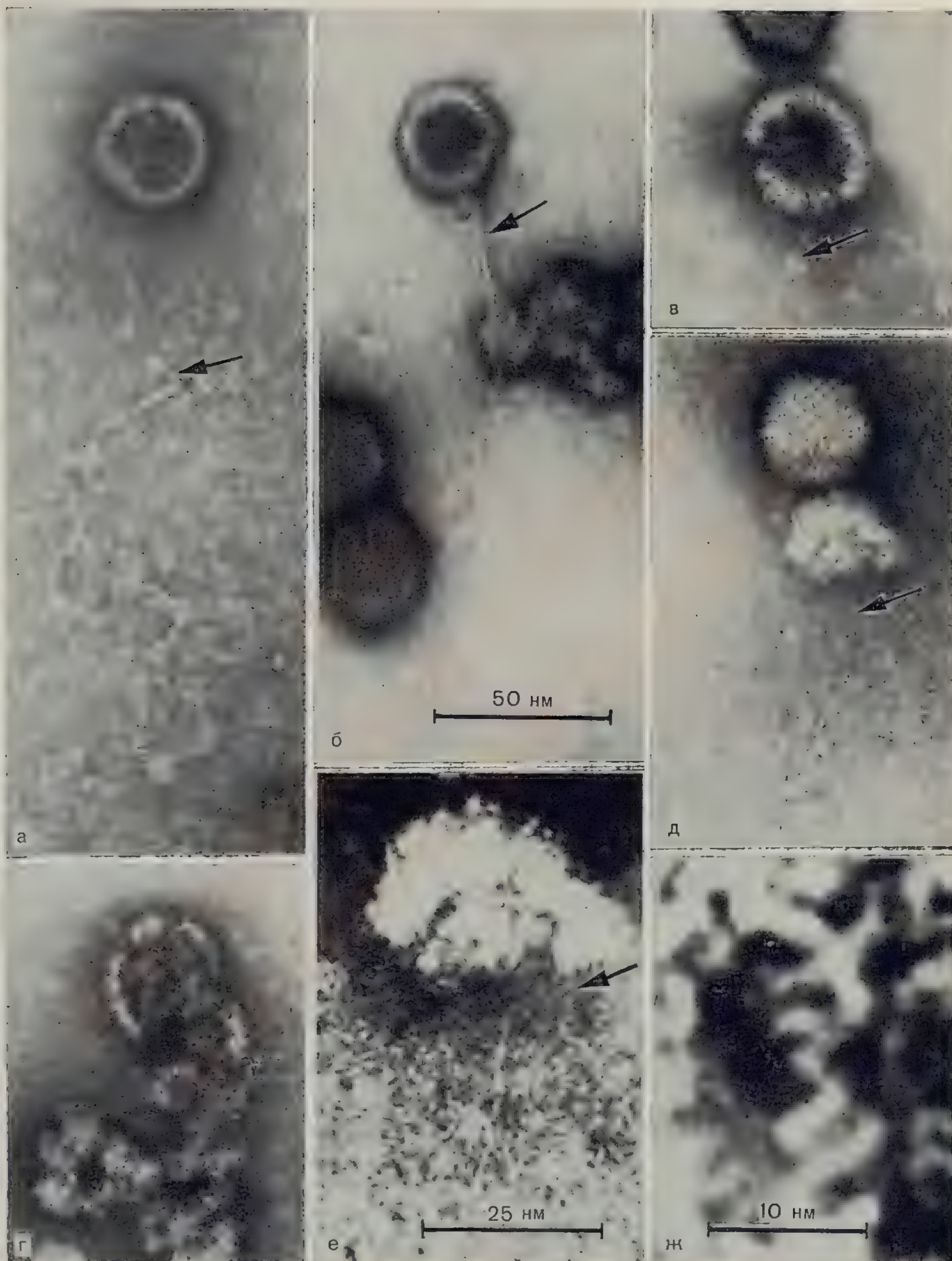


155. Структура аденовируса и капсомеров
(негативное контрастирование).

а, б — ув. 170 000; в — ув. 300 000; г — ув. 600 000
[Valentine, Pereira, 1965]; д, е — ув. 1 000 000.

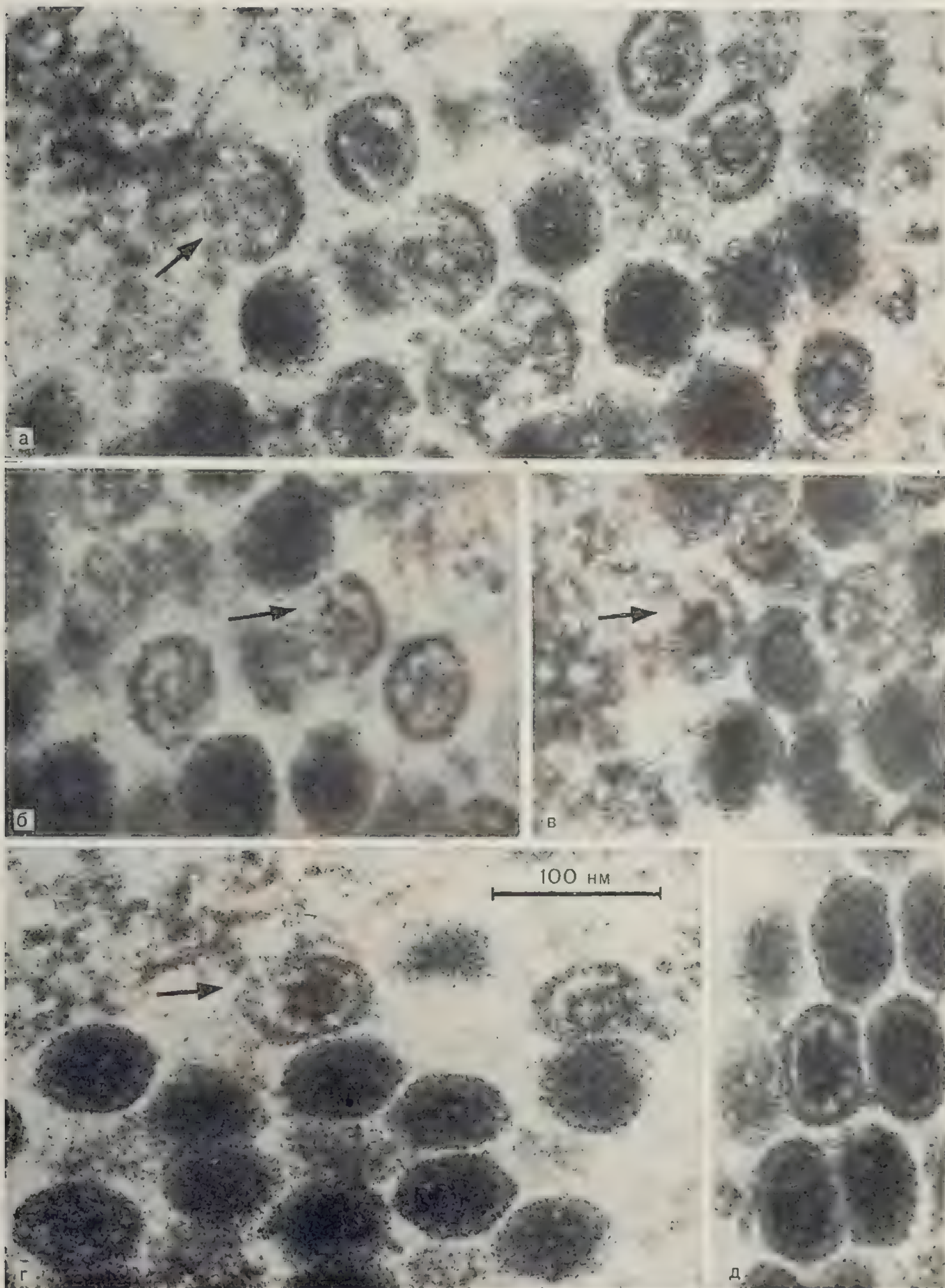


156. Структура нуклеоида аденовируса (стрелками
указаны ДНК аденовируса).
а—д—ув. 300 000; е — ув. 620 000; ж—ув. 2 900 000.



157. *Этапы внутриклеточного развития аденовируса.*
Ув. 300 000.

а, б — начальная стадия формирования капсида
аденовируса (указаны стрелками); в, г —
последующие этапы формирования нуклеокапсида;
д — сформированные вирионы.



Вирсоны герпесвирусов проникают в клетку либо в процессе фагоцитоза [Hummeler et al., 1969], либо при слиянии оболочек вируса и клетки [Morgan et al., 1968]. Miyamoto и соавт. (1978) обнаружили, что в процессе проникновения в клетку «плотные» нуклеониды выходят из вирусных капсидов вблизи поверхности клетки, а «рыхлые» нуклеониды — вблизи ядра клетки. Вирусная ДНК проникает в ядро клетки через поры ядерной оболочки [Luettzeller et al., 1979]. Вирусная ДНК с молекулярной массой $80-150 \cdot 10^6$ синтезируется в ядрах клеток через 3—7 ч после заражения [Jean et al., 1978], вирусные белки — в цитоплазме [Fujiwara, Kaplan, 1967]. Затем структурные белки транспортируются в ядро инфицированной клетки; вирусные гликопротеиды обнаруживаются в связи с мембранами гладко-контурного эндоплазматического ретикулула [Roizman, 1978]. Формирование нуклеокапсидов вирусов герпеса, как правило, происходит в ядре [Darlington, Moss, 1969]. На рис. 158—161 изображены этапы формирования нуклеокапсидов ряда представителей семейства вирусов герпеса. Friedman и соавт. (1975) считают, что вирусная ДНК включается в сформированный капсид. Kurituga и соавт. (1977) предполагают, что сердцевинки и капсиды формируются в различных участках ядра, а затем собираются. По данным Miyamoto (1977), нуклеокапсиды образуются из гранул диаметром 35—40 нм. Нуклеокапсиды некоторых герпесвирусов формируются в цитоплазме [Королев М. Б. и др., 1974; Чувиров Г. Н., 1979; Friedman et al., 1976]. Оболочка вирионов (рис. 162) образуется из различных мембран инфицированной клетки [Morgan et al., 1959; Ahmed, Schidlovsky, 1968; Darlington, Moss, 1968; Gialardo et al., 1972].

Инфекционные вирионы появляются через 10 ч после заражения [Fenner, 1977], однако морфологически зрелые вирионы впервые обнаруживаются уже через 6 ч [Nii et al., 1968].

В структуре вириона (рис. 163, 164) выделено 4 компонента [Roizman, 1978]:

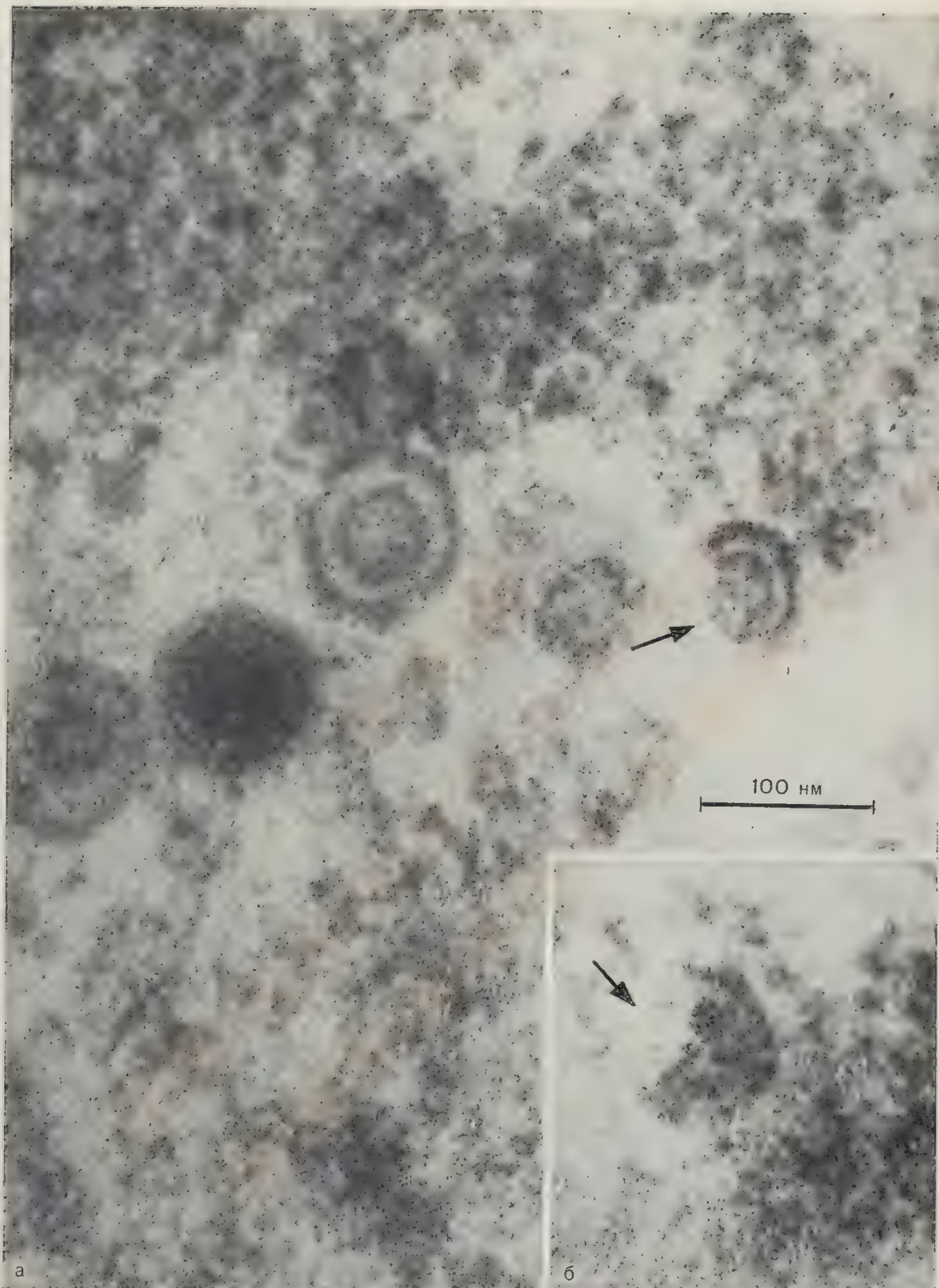
- 1) нуклеонид (диаметром 40—50 нм);
- 2) икосаэдрический капсид (диаметром 85—110 нм);
- 3) тегумент (полиморфный слой аморфного вещества);
- 4) наружная липидогликопротеидная оболочка (толщиной 20 нм), на которой локализуются отростки длиной 7—10 нм. Капсид построен из 162 призматических капсомеров высотой 12,5 нм, наружным диаметром 8—9 нм и с полостью диаметром около 4 нм. Капсомеры в гексагональной упаковке связаны тяжами толщиной 2 нм, отходящими от углов гексагональных призм. В структуре нуклеоида выявлены спиральные тяжи толщиной 4—5 нм [Strandler, Carmichael, 1965; Furlong, 1972].

В градиентах хлорида цезия вирионы располагаются в зоне $1,25-1,28 \text{ г/см}^3$, нуклеокапсиды — $1,33 \text{ г/см}^3$ [Epstein et al., 1970].

Геном герпесвирусов представлен линейной двунитчатой ДНК. Щелочная денатурация приводит к появлению однонитчатых структур ДНК. При электронномикроскопическом исследовании ДНК HSV описаны кольцевые и линейно-кольцевые молекулы. Характерной особенностью вирусов семейства *Herpesviridae* является наличие повторяющихся последовательностей и уникальных фрагментов (L и S). В популяции молекул ДНК HSV выявлены четыре различные изомерные формы, образующиеся в результате рекомбинации отрезков [Wilkie, 1976].

Miller и Human (1978) описали новый тип повторяющихся последовательностей ДНК HSV-2 — палиндромы и палиндромоподобные последовательности. Этот тип коротких инвертированных дуплетов ДНК описан для эписомальных, бактериальных ДНК, ДНК бактериофагов и SV-40.

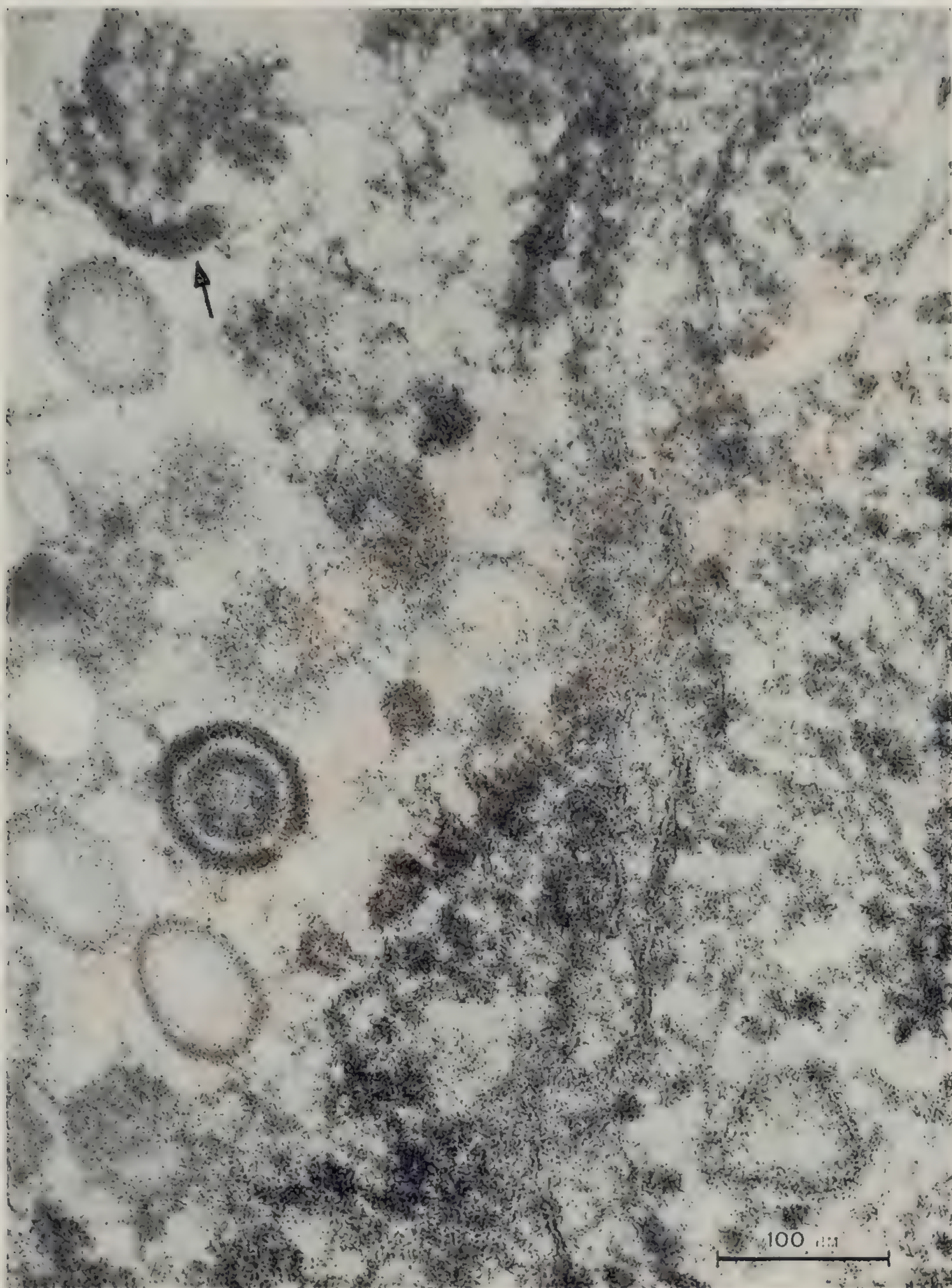
Несомненный интерес представляют исследования дефектных интерферирующих частиц вирусов группы герпеса. Нарастание их количества в популяции коррелирует с усилением трансформации клеток, которые становятся высоко туморогенными для сингенных хозяев [Dauenhauer et al., 1980].



158. *Последовательные этапы развития нуклеокапсидов вируса болезни Марек в ядре клетки.*

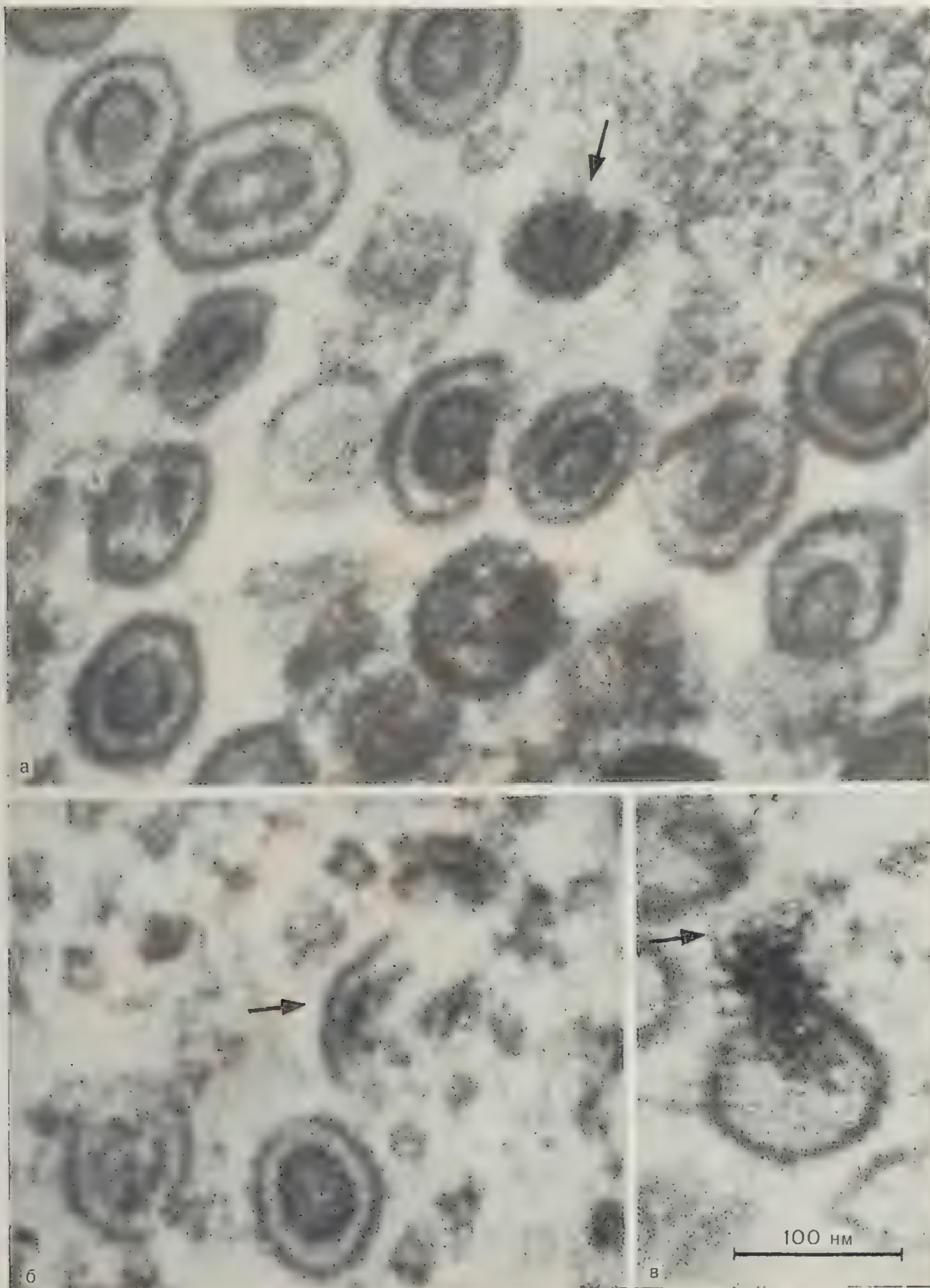
а — формирование нуклеокапсида (указано стрелкой). Ув. 300 000; б — фрагмент а. Ув. 600 000.

159. Формирование нуклеокапсида (указано стрелкой) вируса Эпштейна — Барр.
Ув. 300 000.

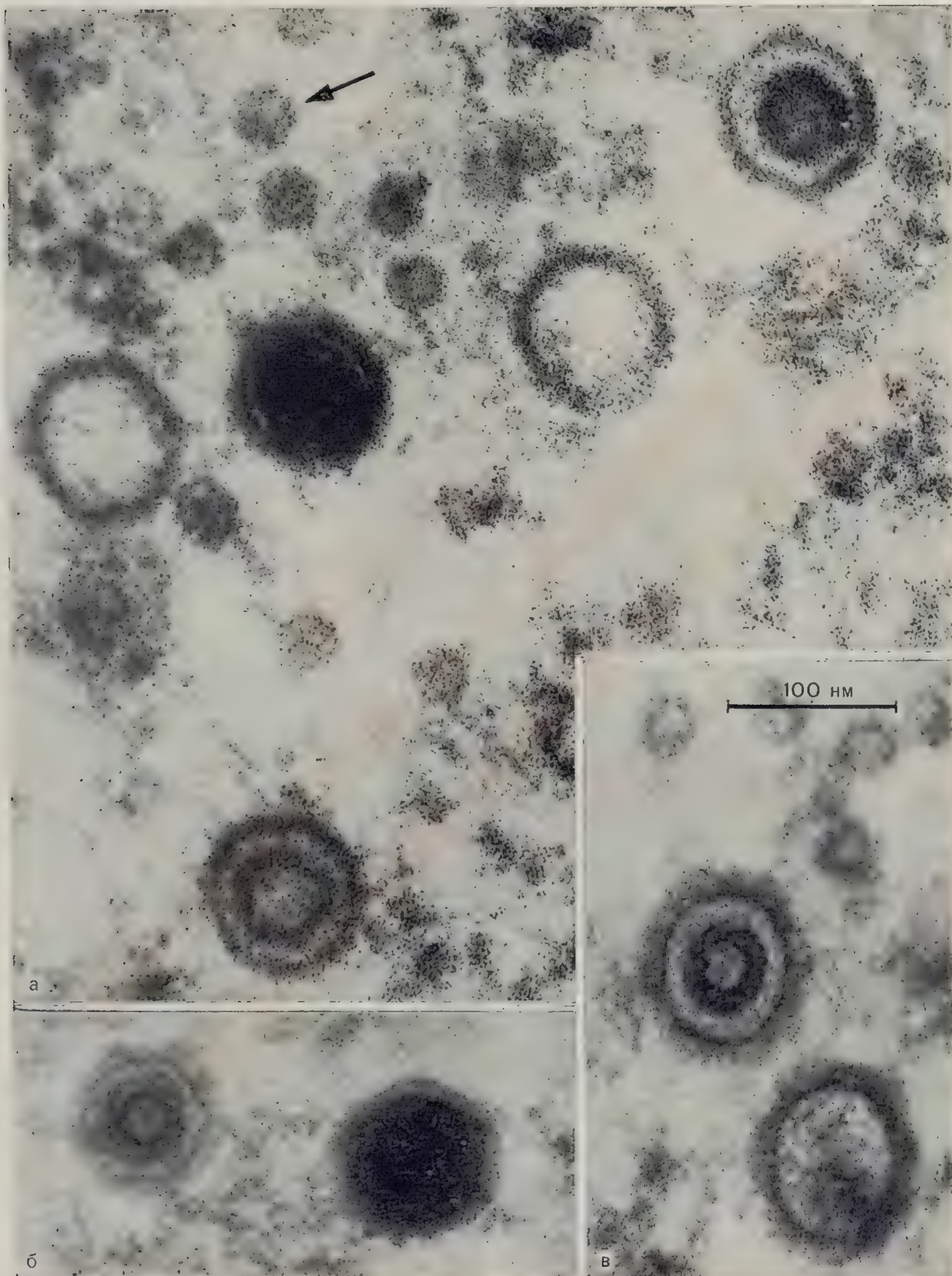


160. Этапы формирования (указано стрелкой)
 нуклеокапсидов вируса герпеса (тип 2)
 человека. Ув. 300 000.

а — одновременное развитие нуклеоида и капсида
 в зоне виропласта; б — формирование
 нуклеокапсида в нуклеоплазме; в — включение
 материала нуклеоида в капсид (показано
 стрелкой).

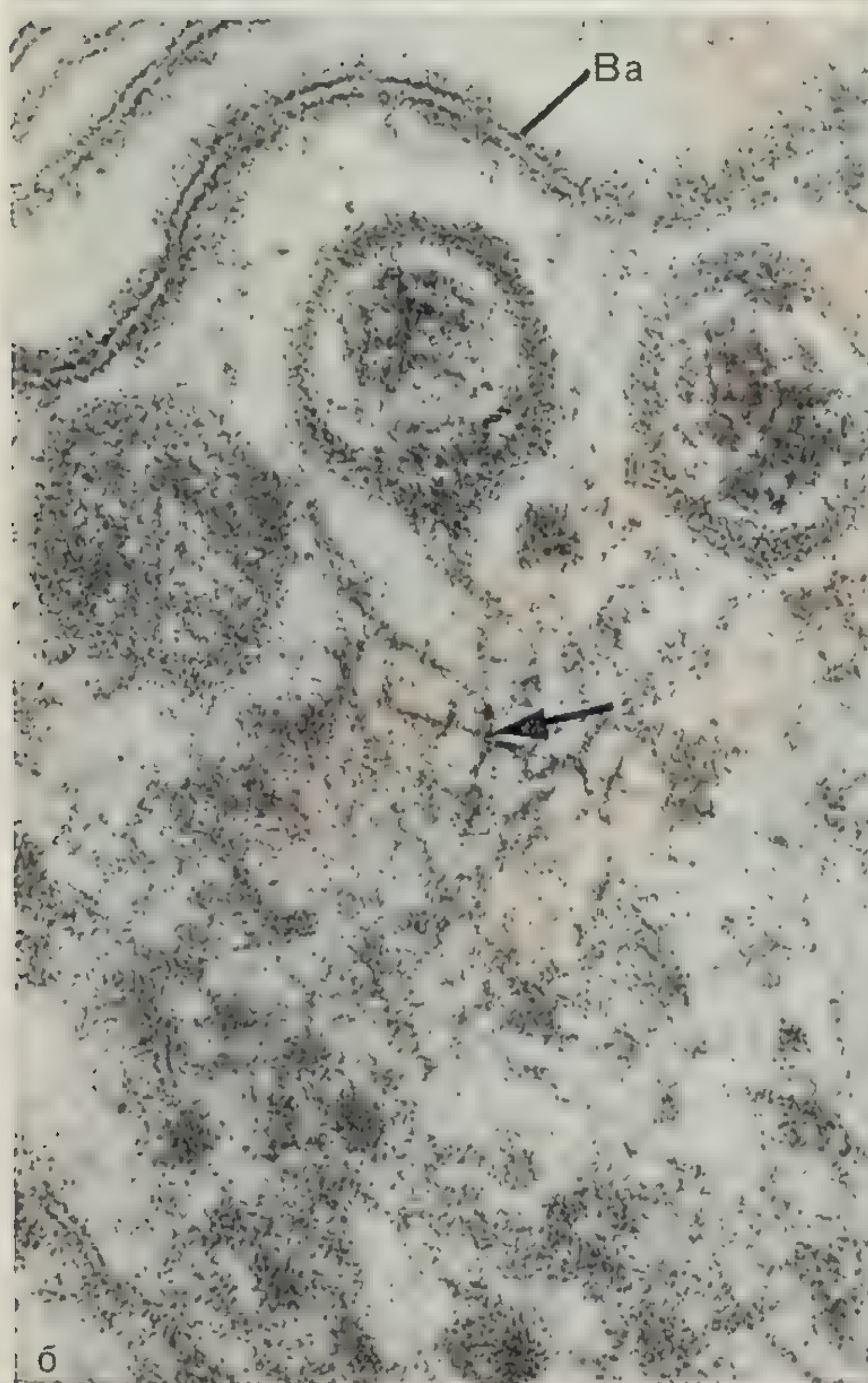


161. Дифференцировка нуклеокапсидов (а—в)
вируса болезни Марека в ядрах
инфицированных клеток. Ув. 300 000.

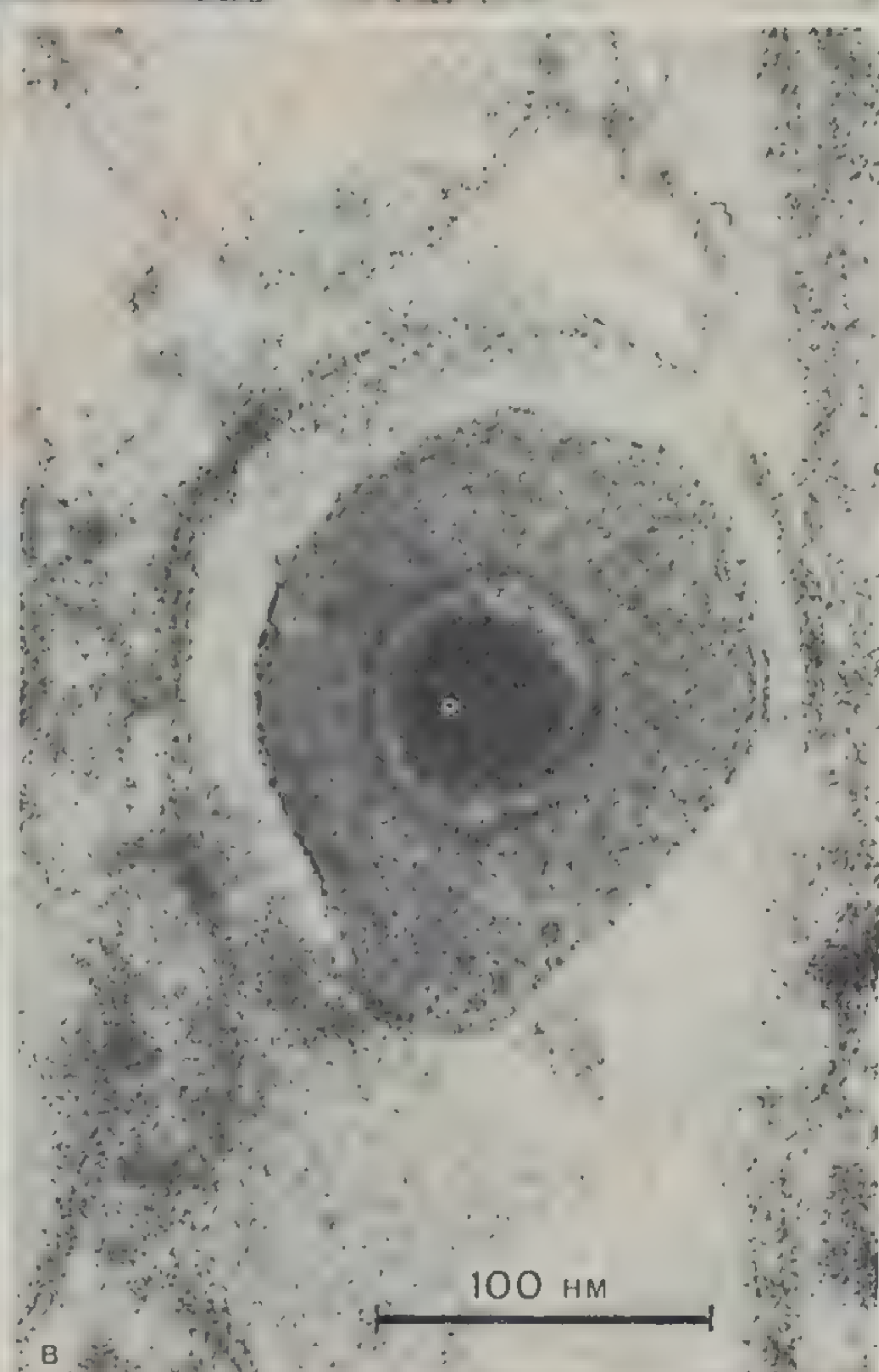
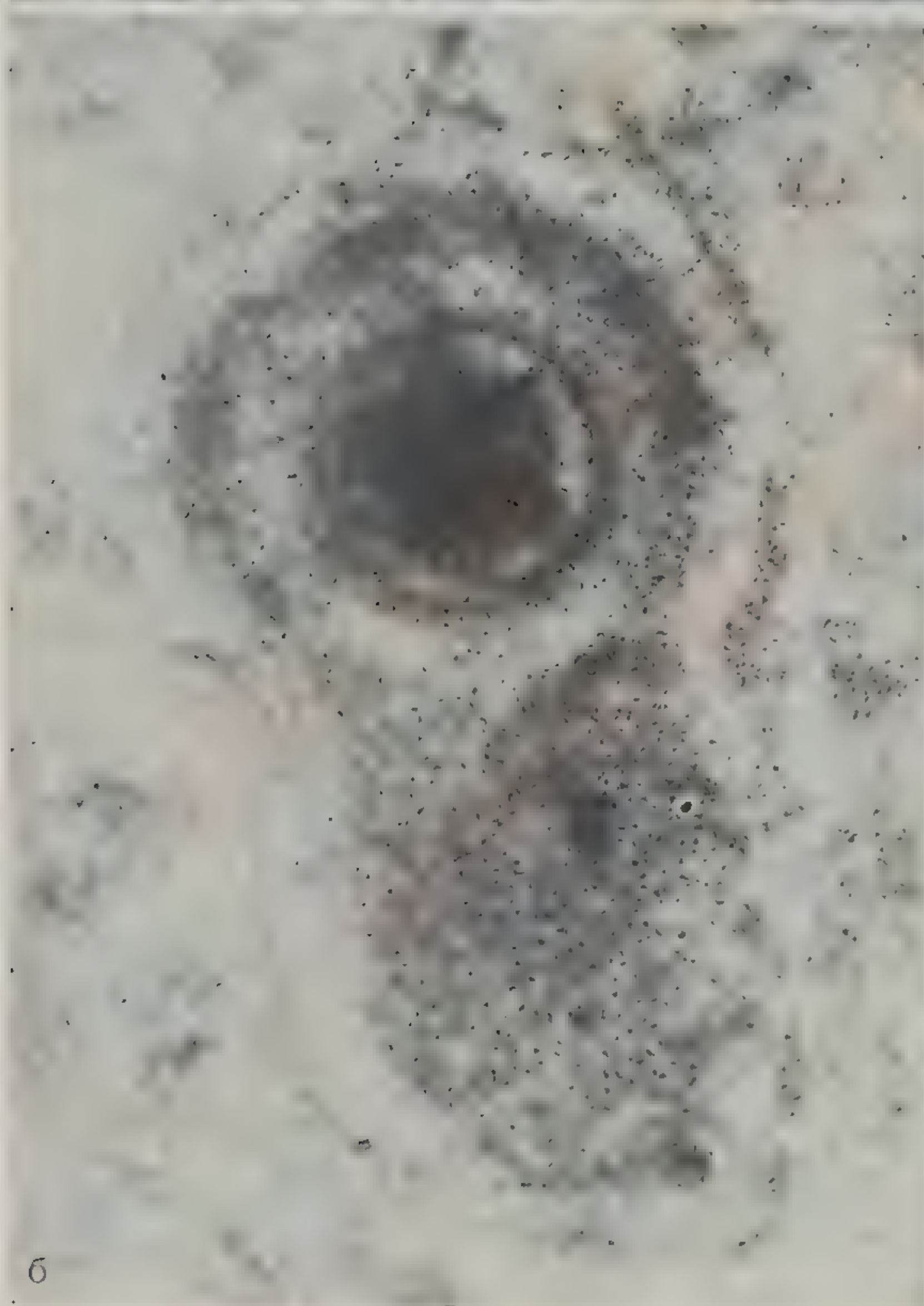
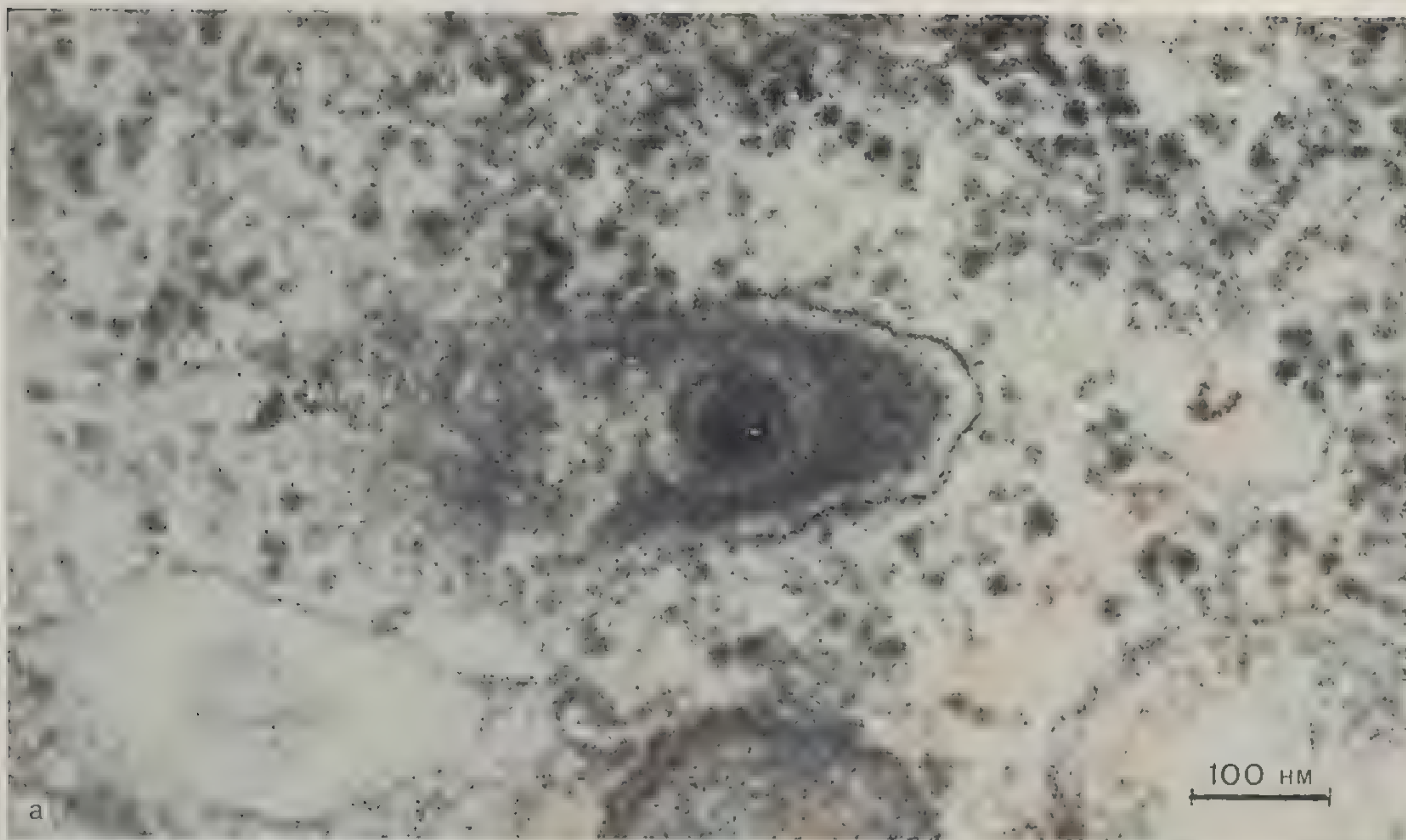


162. Почкование нуклеокапсидов герпесвирусов.
Ув. 300 000.

а — нуклеокапсид, локализованный под плазматической оболочкой (ПО) клетки; б — нуклеокапсид, локализованный у оболочки вакуоли (Ва); в — выделение нуклеокапсидов из ядра клетки. Стрелкой указаны тяжи РНП.

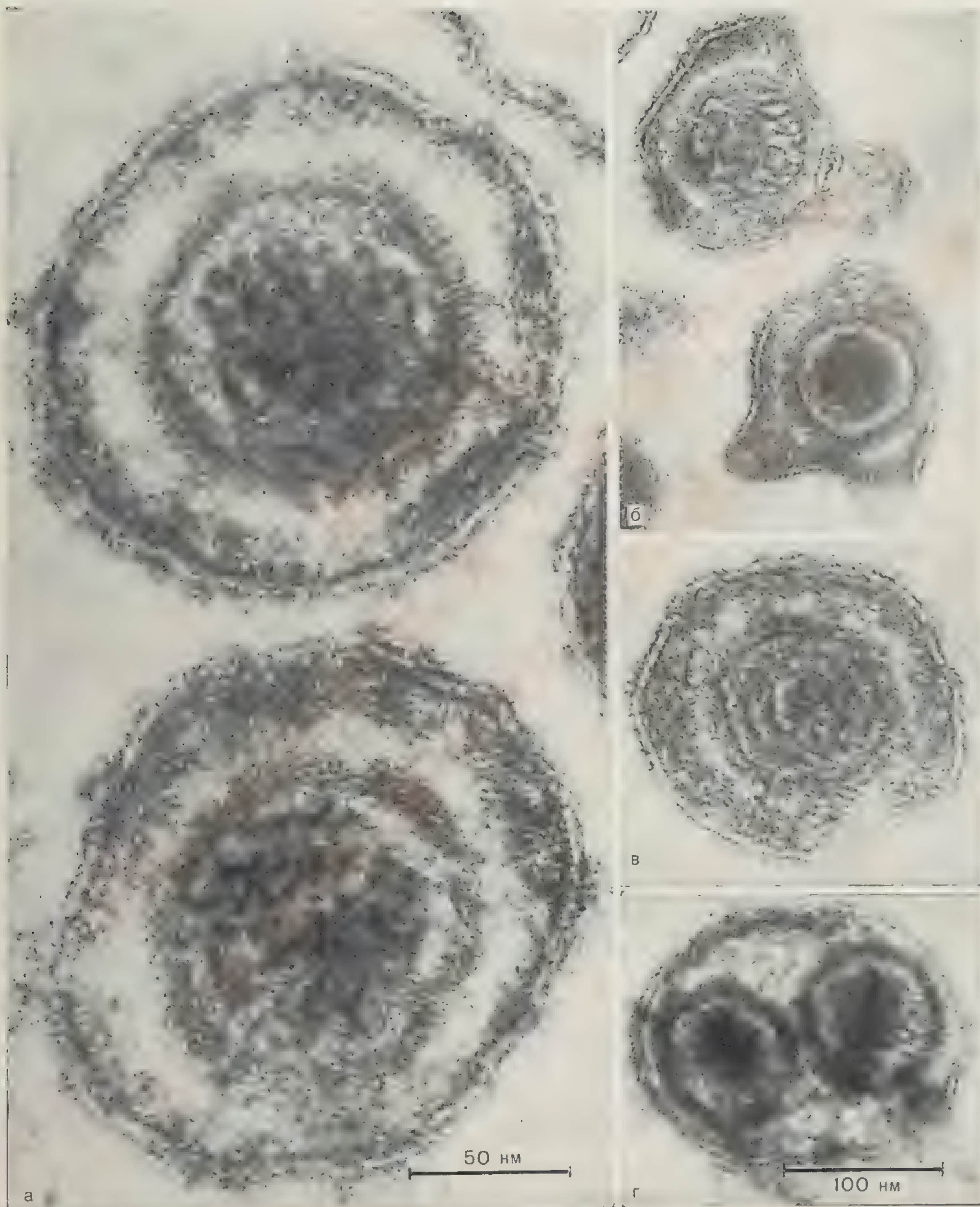


163. Локализация герпесвирусов в цистернах
эндоплазматического ретикула.
а — ув. 150 000, б, в — ув. 300 000.



164. Структура вирионов вирусов группы герпеса
в ультратонких срезах.

а — структура вирионов вируса болезни Марек.
Ув. 600 000; б, в — внеклеточные вирионы
герпесвируса (тип 2) человека. Ув. 300 000; г —
внеклеточный вирион, содержащий два
нуклеокапсида. Ув. 300 000.



ХІІІ. ВИРУСЫ ГРУППЫ ОСПЫ

Вирсоны вирусов оспы проникают в клетку в процессе фагоцитоза [Быковский А. Ф., 1965; Dales, 1965]. После разрушения оболочки фagosомы сердцевина вируса проникает в гналоплазму клетки; вирусная ДНК (молекулярная масса $85-240 \cdot 10^6$) освобождается из сердцевины вируса через дефект капсулы [Dales, 1963] через $1/2-2$ ч после заражения. Синтез вирусной ДНК начинается в цитоплазме в зоне виропластов через $1 1/2-2$ ч и заканчивается к 5 ч [Salzman, 1960; Joklik, Becker, 1964]. На рис. 165—169 изображены основные этапы морфогенеза некоторых вирусов оспы. Имеются данные о возможности репликации ДНК некоторых вирусов оспы в ядрах инфицированных клеток [Walfen, 1971; La Colla, Weissbach, 1975]. ДНК вируса вакцины реплицируется в энуклеированных клетках [Prescott et al., 1971, 1972], однако инфекционный вирус в этих условиях не образуется [Pennington, Follett, 1974; Hruby et al., 1979]. На этом основании сделан вывод о том, что ядро клетки-хозяина является необходимым для формирования инфекционного вируса.

Tsuruhara (1971) показал, что сферические незрелые частицы вируса Яба диаметром 300—400 нм имеют на наружном слое оболочки поверхностные субъединицы 10 нм шириной и 15 нм длиной. Цилиндрические структуры состоят, по-видимому, из поверхностных субъединиц. Незрелые вирусные частицы покрыты 95—125 субъединицами. De Harven, John (1966), считают, что поверхностные субъединицы вируса Яба и отростки на поверхности вируса вакцины на ранних этапах развития сходны и, по-видимому, существенно необходимы для начальной фазы морфогенеза вирусов. При превращении незрелого вируса контагиозного моллюска в зрелый вирус внутри оболочки на сколах, полученных методом замораживания — скалывания, Vreeswijk с соавт. (1977) наблюдали перераспределение частиц в параллельные полосы.

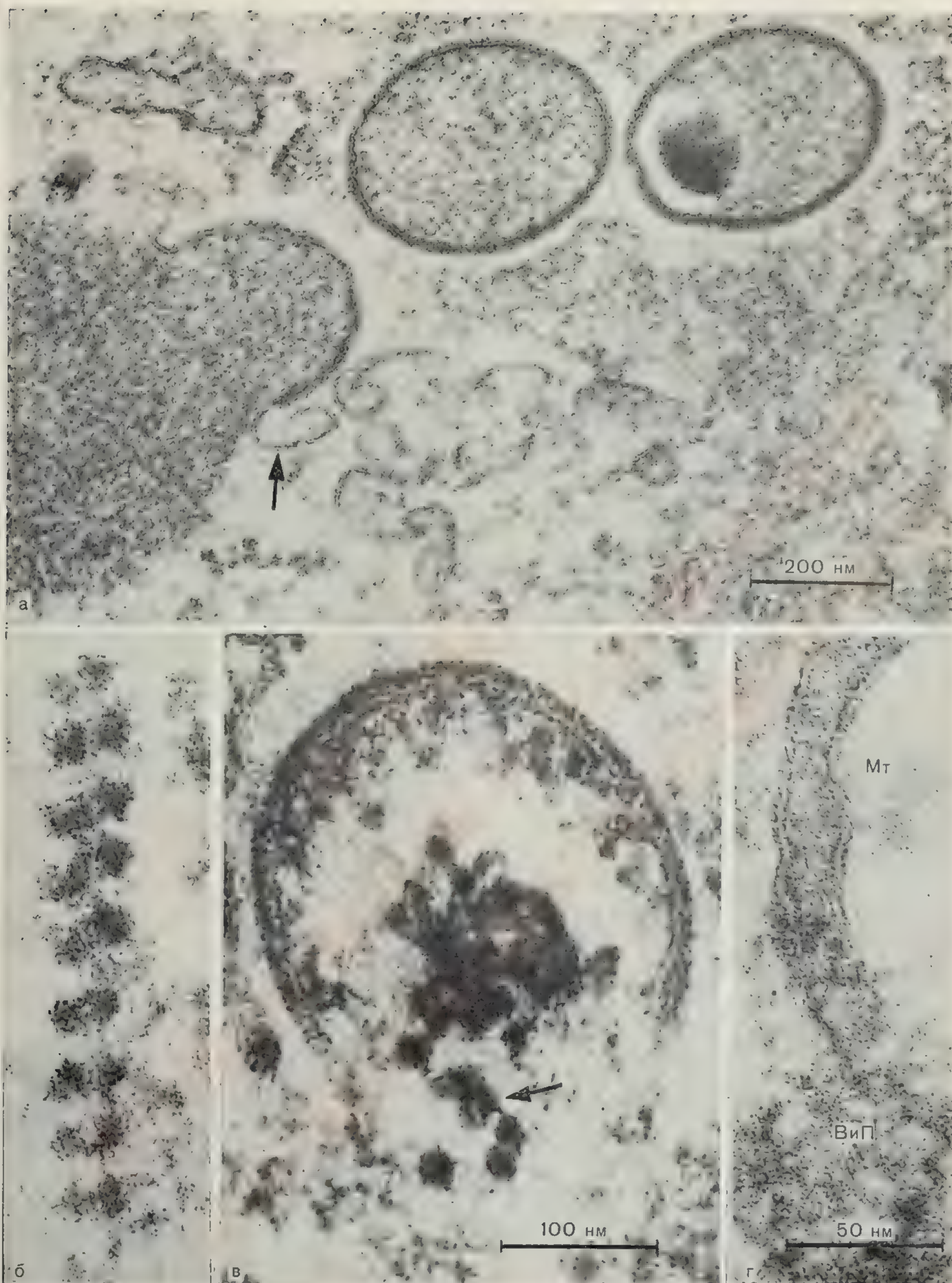
Величина зрелых вирионов вируса оспы

(см. рис. 169) составляет $300-450 \times 170-260$ нм.

При изучении структуры нуклеоида вируса контагиозного моллюска было показано, что он состоит из тяжелей диаметром 10 нм, которые, вероятно, соединены между собой и образуют единую структуру [Vreeswijk et al., 1977].

Pogo и Dales (1971) предложили две схемы формирования вирусов оспы. Согласно первой схеме оболочки провирионов формируются до включения поздних внутренних белков в структуру вируса. По второй схеме составные части оболочки собираются в «фабриках» вокруг ДНК и внутренних белков, оболочка провириона не может полностью сформироваться до тех пор, пока все необходимые полипептиды не встанут на свое место. Предполагается, что внутренние дополнительные белки, такие как предшественники р62 [Katz, Moss, 1970], р60, р24 и р18, собираются внутри формирующегося провириона с тем, чтобы затем включиться в нуклеонид и латеральные тела зрелого вируса. Данные Stern и Dales (1976) говорят в пользу второй гипотезы, так как провирионы, формирование оболочек которых завершено в присутствии гидроксимочевины, превращаются в вирионы после возобновления синтеза ДНК и поздних белков.

Существует предположение [Tooze, 1973], что все вирусы оспы способны вызывать пролиферацию клеток, однако большинство представителей этого семейства (вирусы осповакцины, натуральной оспы и др.) вызывают быструю деструкцию клеток, а опухолеродные вирусы оспы обладают сниженным цитопатическим действием. Все эти вирусы способны вызывать у своих естественных хозяев доброкачественные опухоли с латентным периодом в 1—2 недели: фибромы (вирусы фиброаденомы кроликов, белок, зайцев, оленей), фибромоподобные узелки (вирус миксомы), гистиоцитомы (вирус Яба обезьян), опухолеподобные разрастания эпителия (вирус контагиозного моллюска человека).



165. *Этапы внутриклеточного развития поксвирусов.*

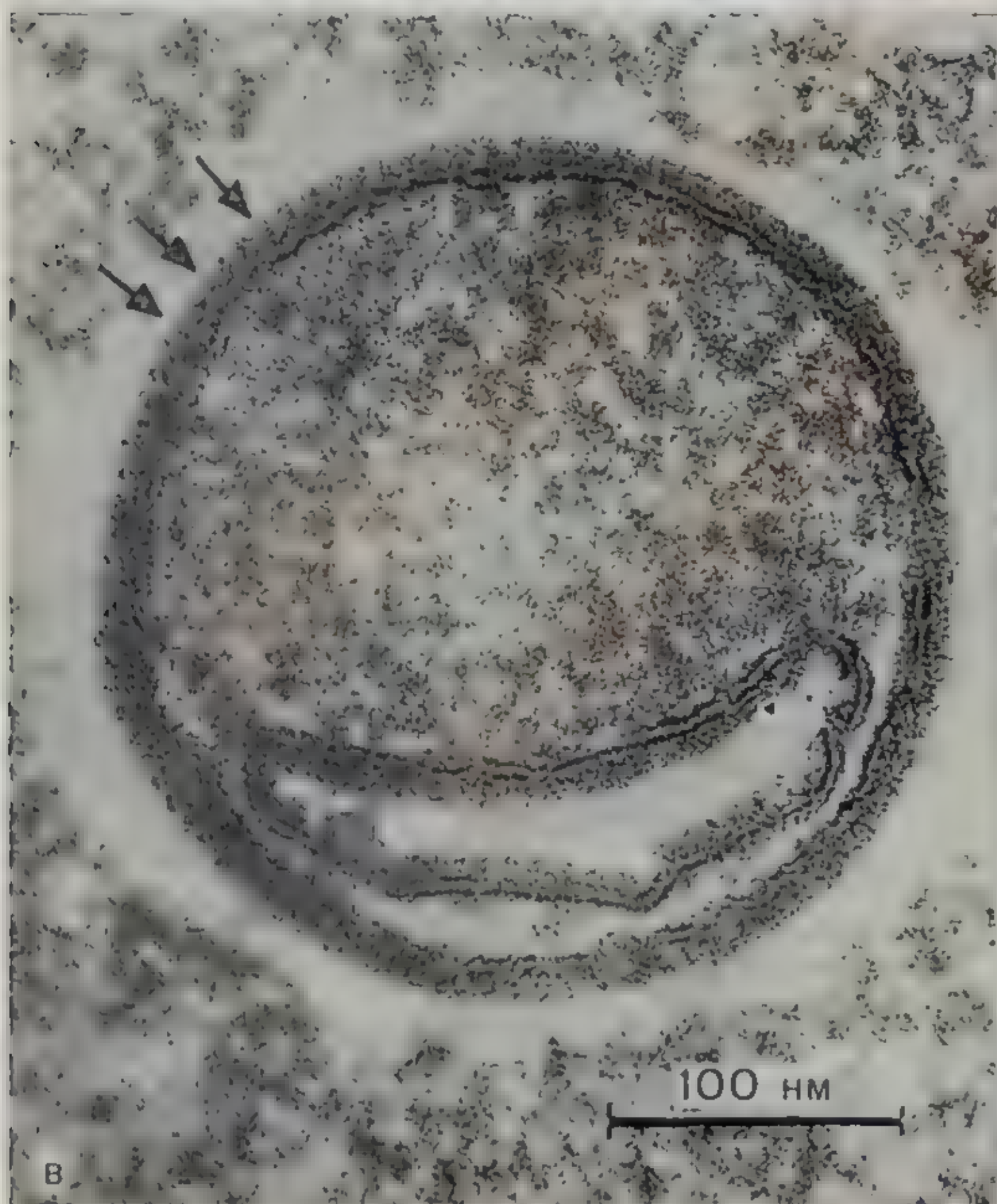
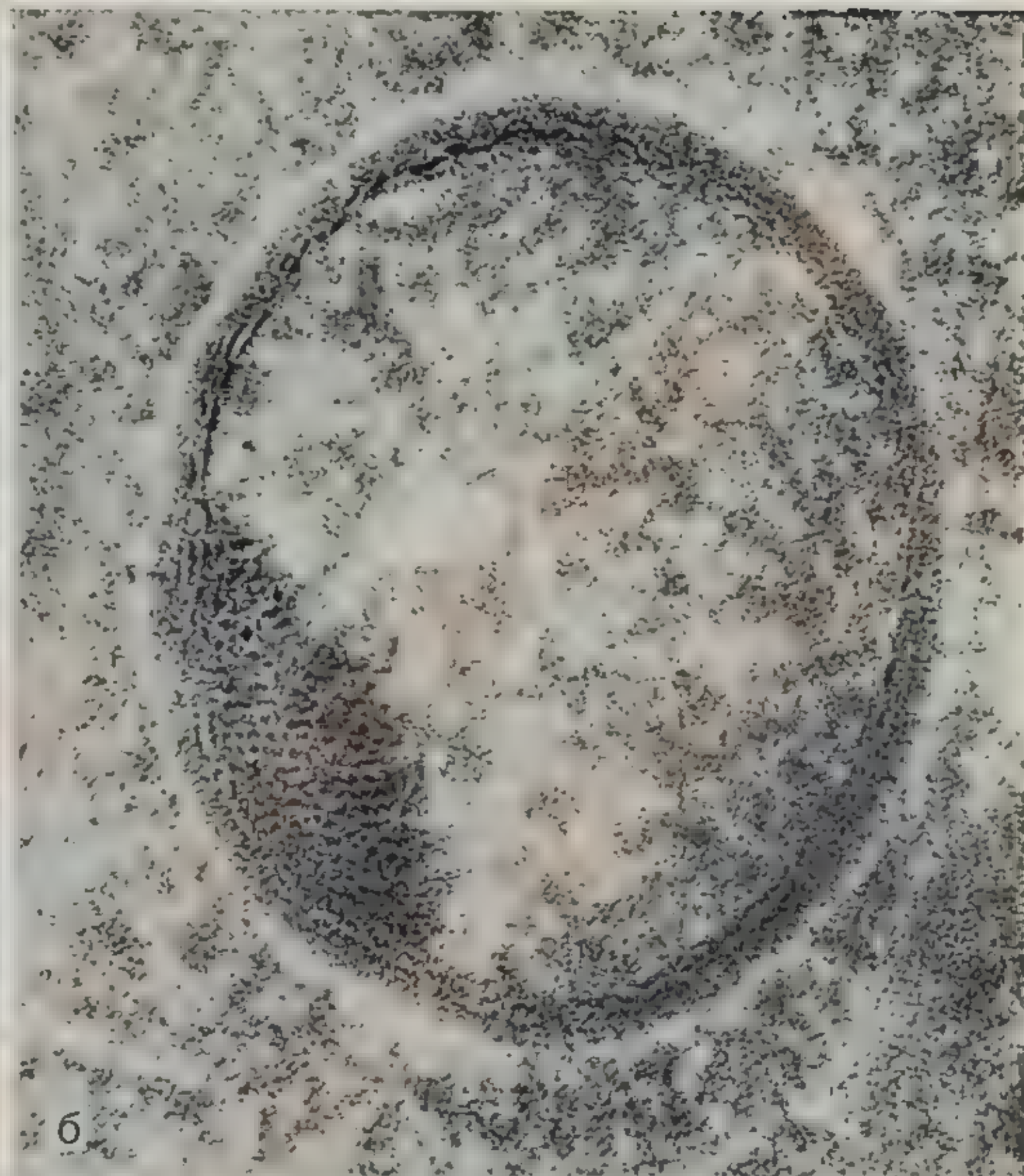
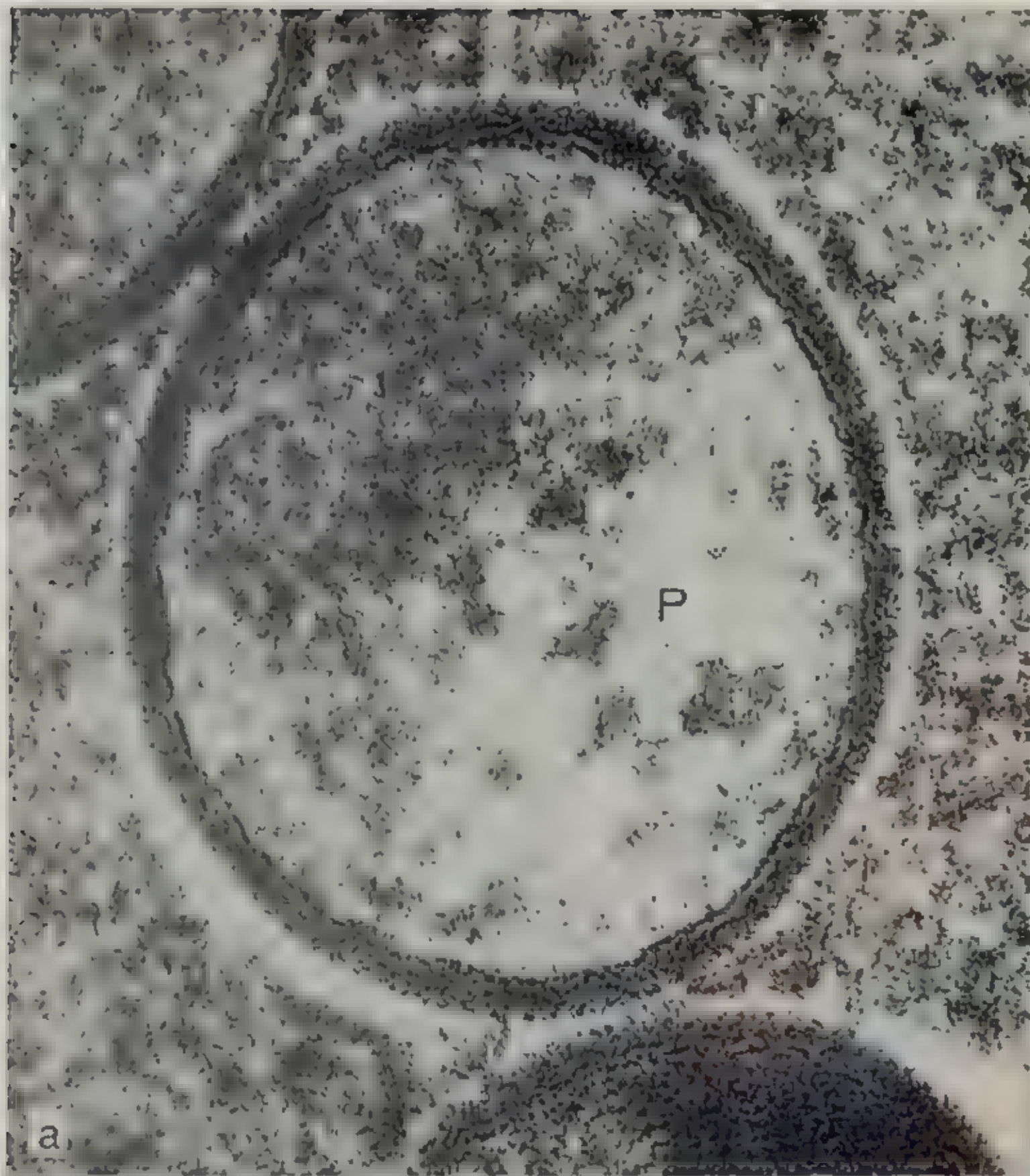
а — формирование первичной оболочки вириона в зоне рыхлого виропласта в цитоплазме инфицированной клетки (стрелкой указана зона контакта оболочки вируса с вакуолями). Ув. 150 000;

б — линейная полирибосома, локализуемая в зоне формирования вирионов оспы. Ув. 300 000; в — линейная полирибосома (указана стрелкой) внутри полости формирующегося вириона оспы. Ув. 300 000;

г — цитоплазматическая микротрубочка (Мт) в зоне виропласта (ВиП). Ув. 600 000.

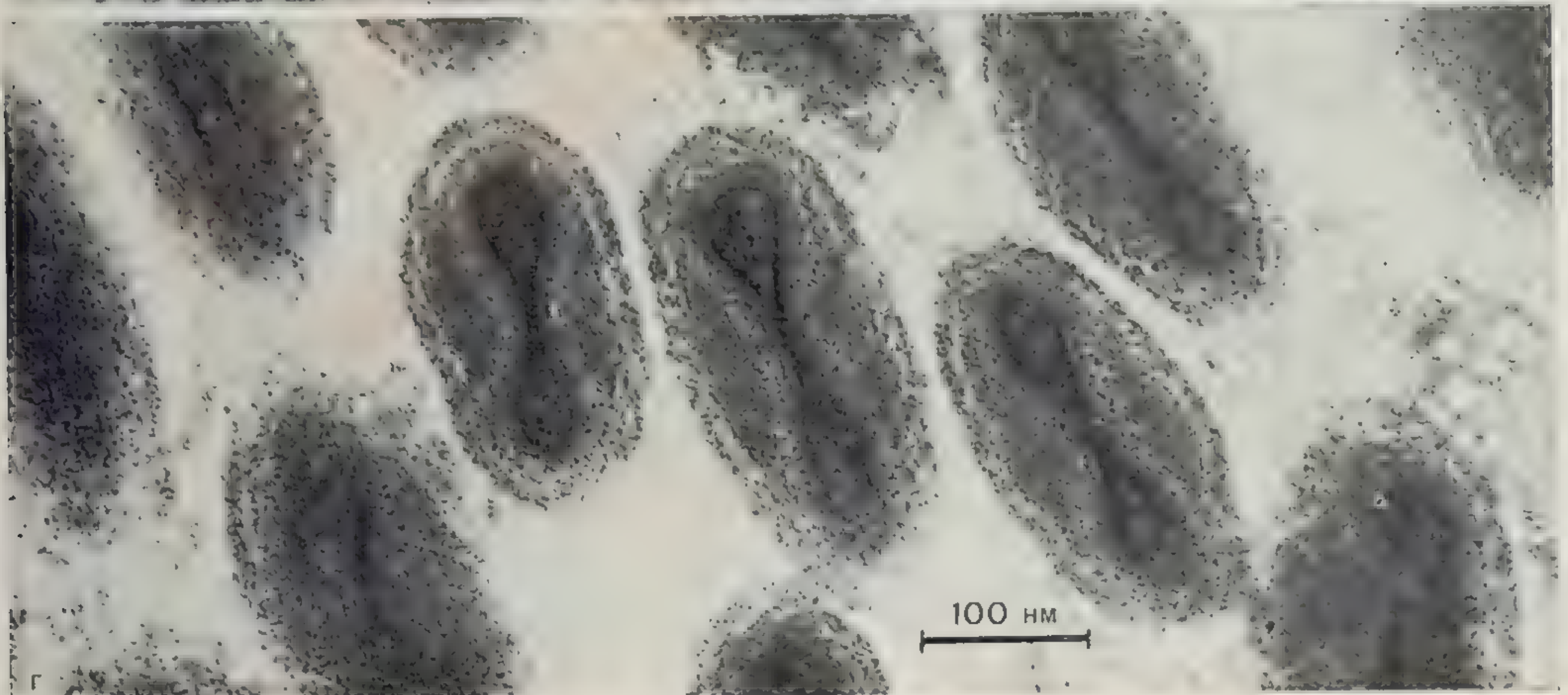
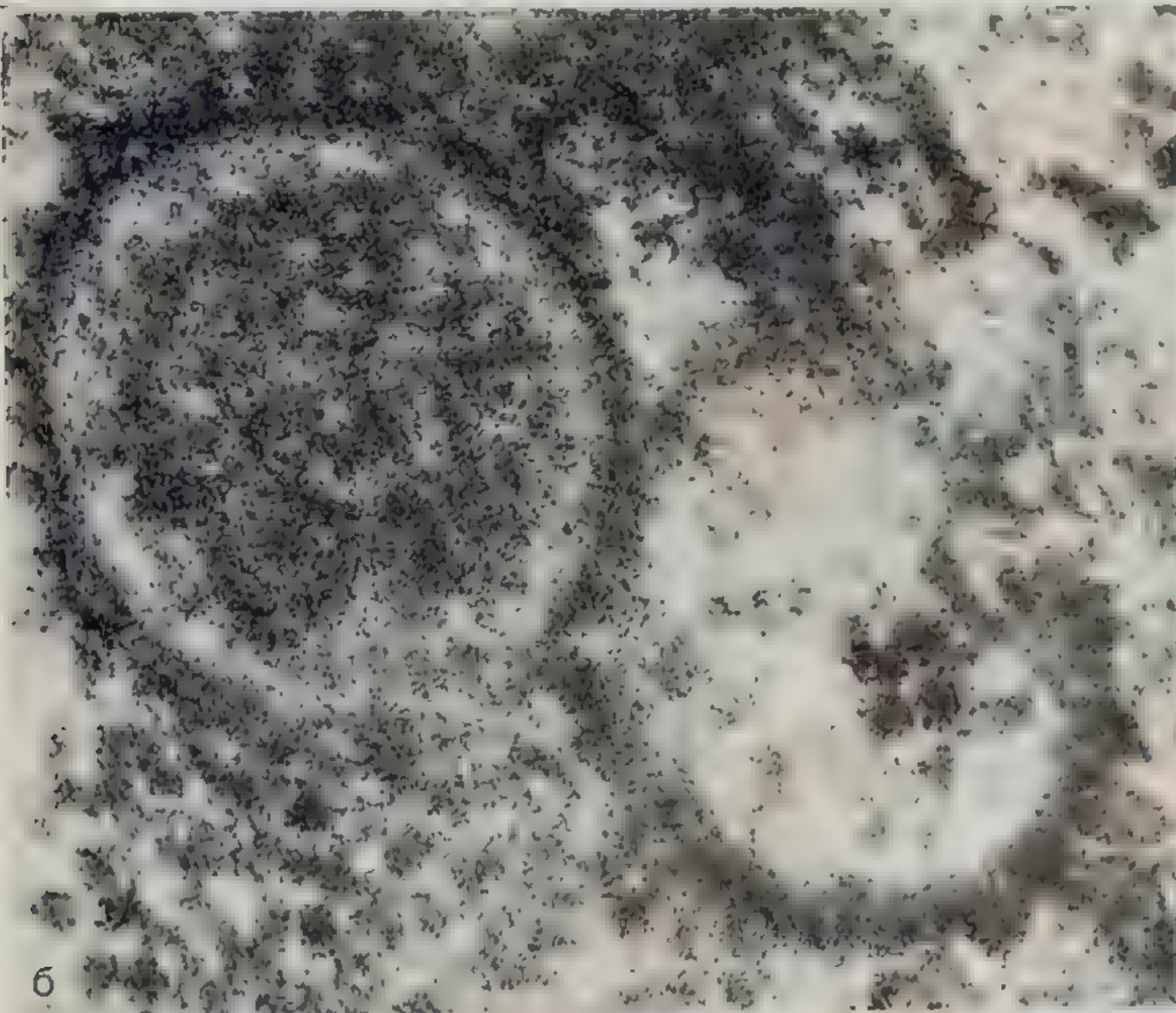
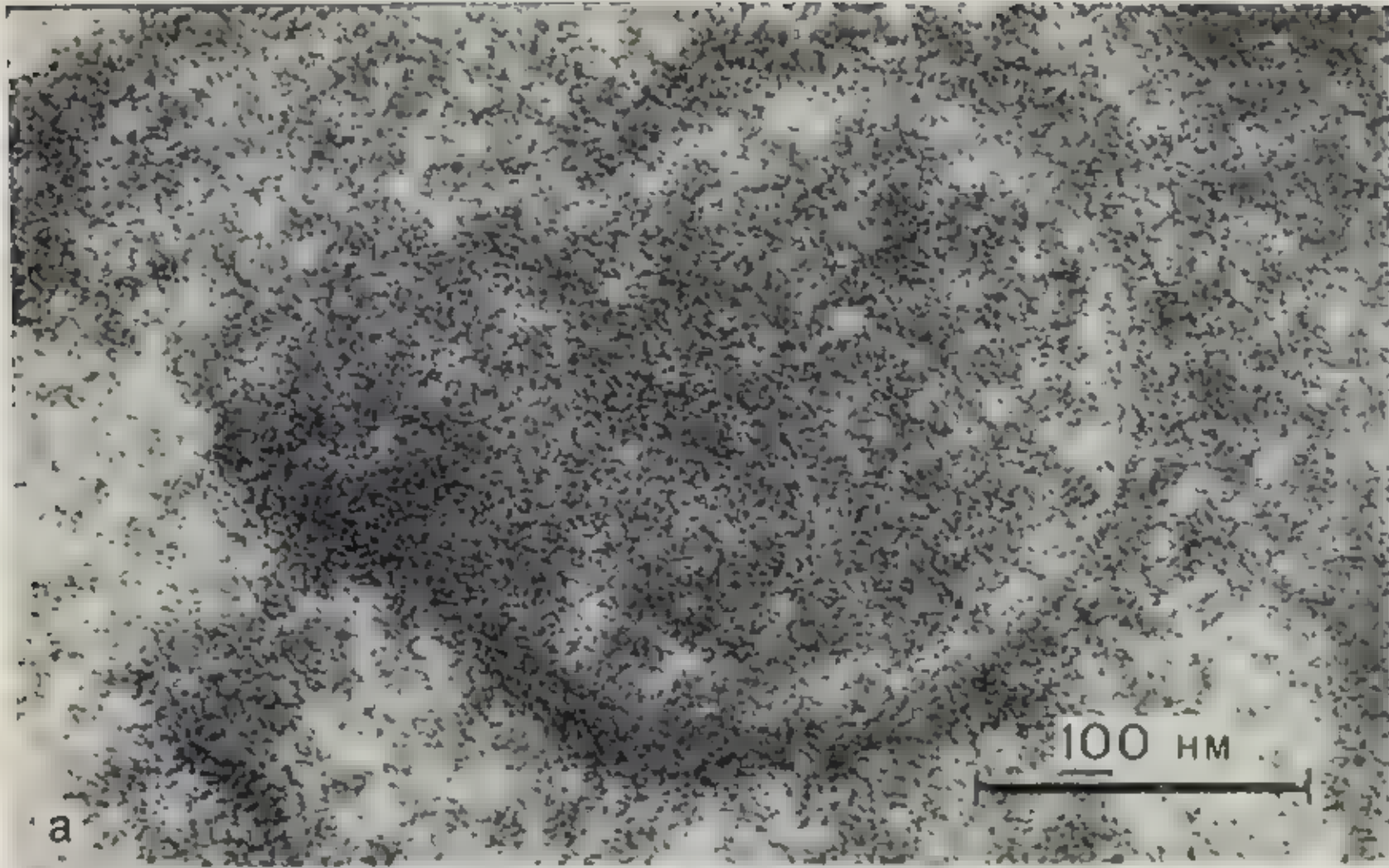
166. Дифференцировка провирионов поксвирусов.
Ув. 250 000.

а — стадия однополостного периода онтогенеза;
б — начальная стадия дифференцировки нуклеоида;
в — формирование микроворсинок (указано
стрелками) на поверхности оболочки; г —
сформированный вирион оспы в цитоплазме клетки.
ОВ — оболочка; КСц — капсула сердцевины;
НВ — нуклеонд; БТ — боковое тело; Р — рибосома.



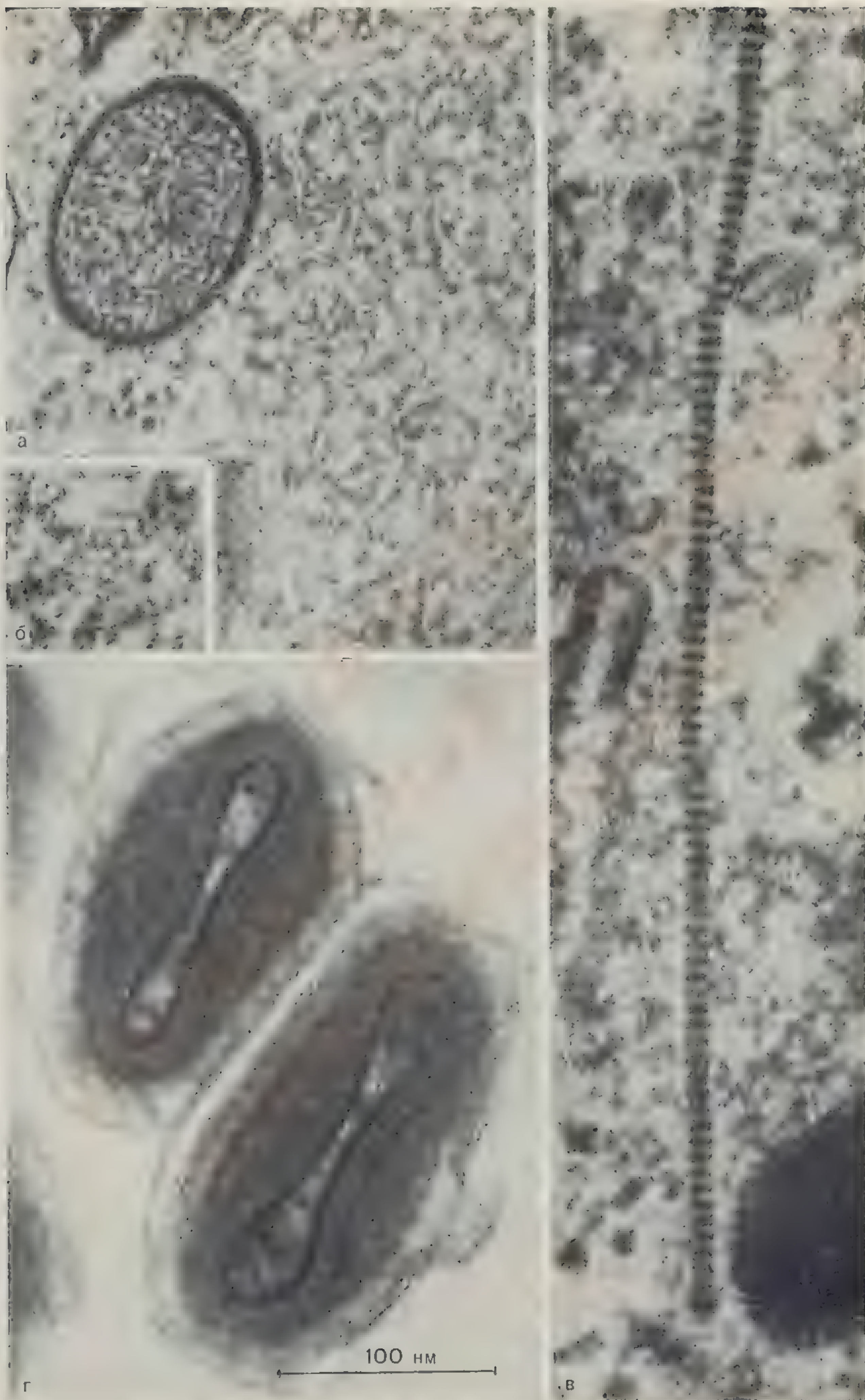
167. Этапы внутриклеточного развития вируса
контагиозного моллюска.

а, б — стадии формирования первичных оболочек
вириона. Ув. 250 000; в, г — зрелые вирионы вируса
контагиозного моллюска в цитоплазме клеток
опухоли. Ув. в — 130 000; г — ув. 200 000.



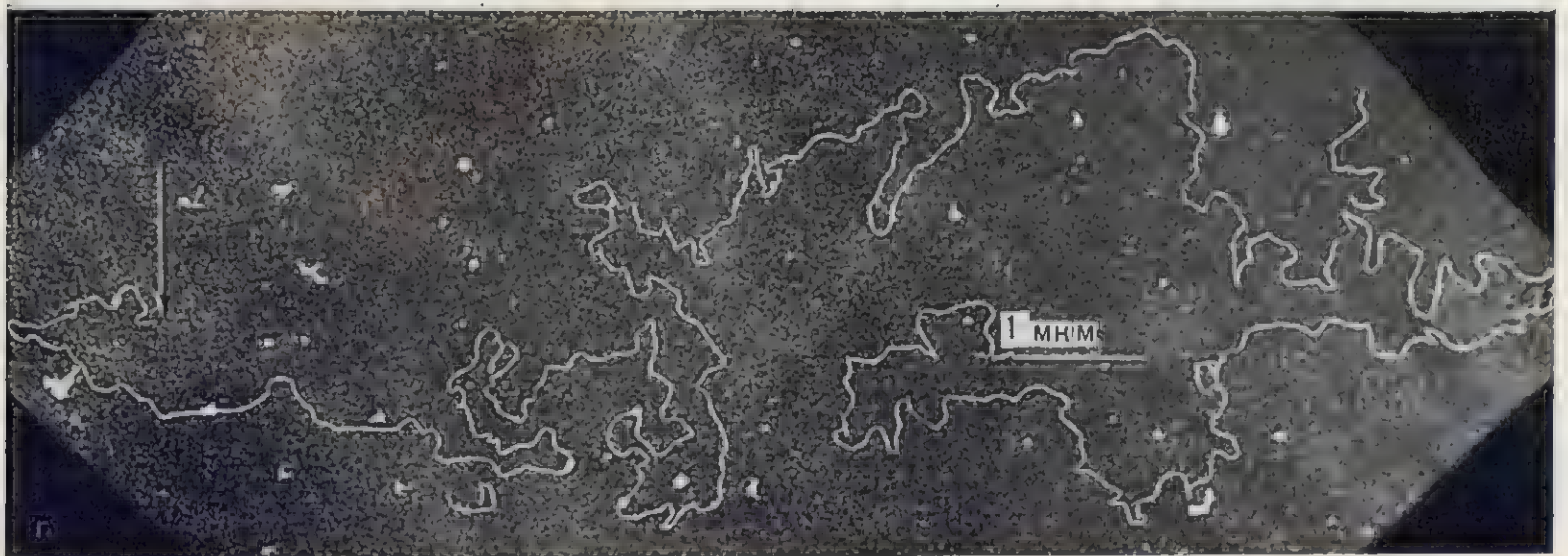
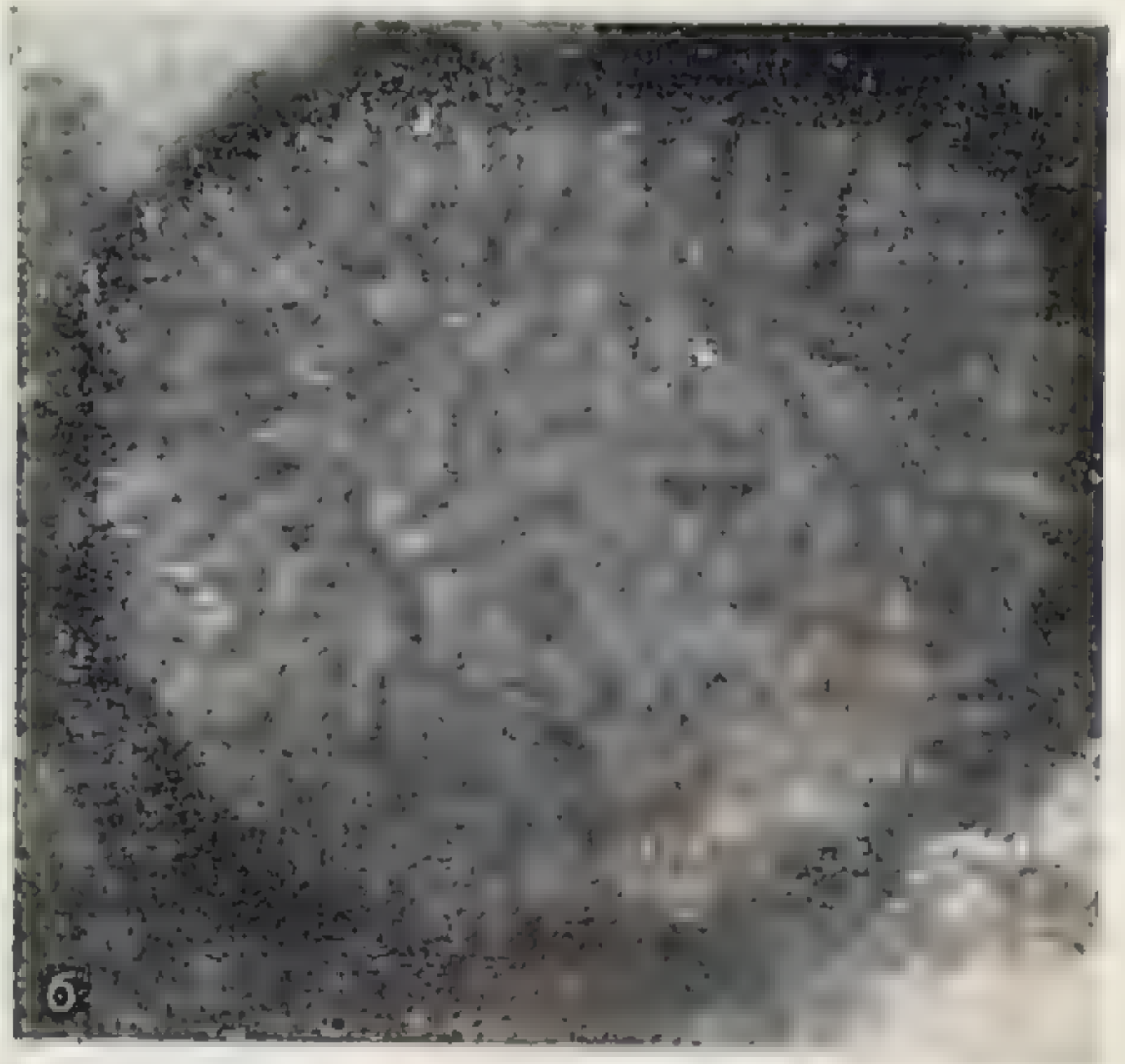
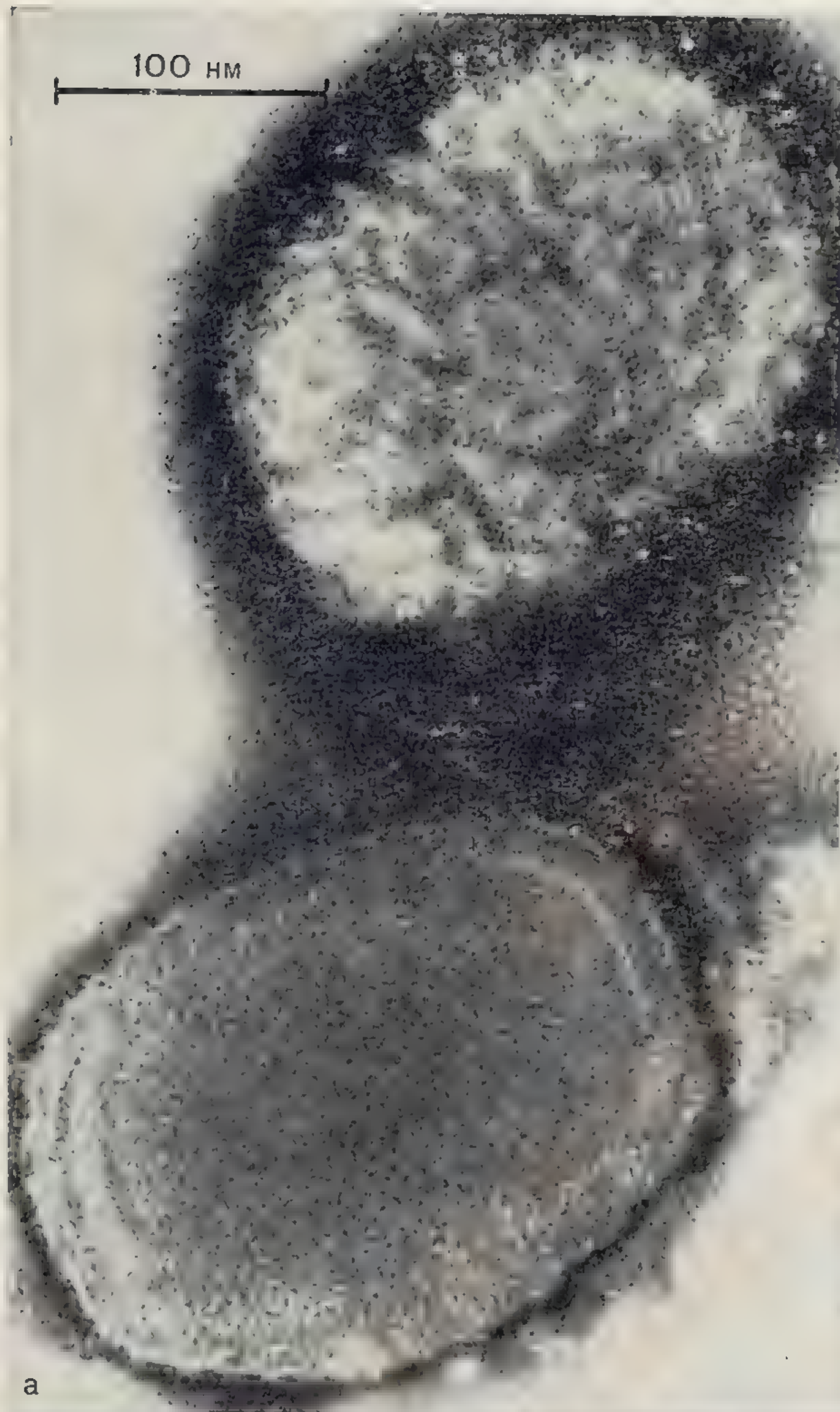
168. *Этапы морфогенеза вируса фибромы Шопа.*

а — зона виропласта, Ув. 150 000; б — фрагмент виропласта, Ув. 300 000; в — зона виропласта, пластинчатая структура, Ув. 400 000; г — внеклеточные зрелые вирионы, Ув. 400 000 (препараты Р. А. Кукайн и сотр., 1979).



169. Структура внеклеточных вирионов поксвирусов
(негативное контрастирование).

а — вирус контагиозного моллюска человека. Ув.
400 000; б, в — вирус фибромы Шопа (препарат
Р. А. Кукайн и сотр., 1979); г — молекула ДНК
вируса осповакцины с массой $160 \cdot 10^6$ [Dales, 1973].



XIV. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ ОТ ДРУГИХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ И ОРГАНОИДОВ КЛЕТОК ЭУКАРИОТОВ

Материалы по субмикроскопической организации инфекционных и онкогенных вирусов, бактерий, простейших и клеток эукариотов, инфицированных вирусами, изложены в ряде книг: «Атлас анатомии и онтогенеза вирусов человека и животных» [А. А. Авакян, А. Ф. Быковский, 1970]; «Анатомия аденовируса типа 12 в онтогенезе» [Б. А. Калнынь, В. И. Кувичкин, 1971]; «Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных» [А. А. Авакян, Л. И. Кац, И. Б. Павлова, 1972]; «Ultrastructure of Animal Viruses and Bacteriophages» (атлас, написанный 29 авторами, под редакцией Dalton, Hagnenau, 1973); «Атлас вирусной цитопатологии» [А. Ф. Быковский, Ф. И. Ершов, В. Я. Кармышева, В. И. Блюмкин, Л. Л. Миронова/Под ред. В. М. Жданова, 1975]; «Атлас анатомии простейших, патогенных для человека и животных» [А. А. Авакян, 1976]; «Персистенция вирусов» [А. Ф. Бочаров, Е. Ф. Бочаров, 1979]; «Онкогенные вирусы типа D» [В. М. Жданов, А. Ф. Быковский, К. В. Ильин, 1979]; «Очерки по вирусной цитопатологии» [В. Д. Соловьев, Я. Е. Хесин, А. Ф. Быковский, 1979]. Вследствие этого мы дадим краткое описание морфологии лишь двух групп вирусов — аренавирусов и коронавирусов, которые по морфологии наиболее близки к некоторым ретровирусам.

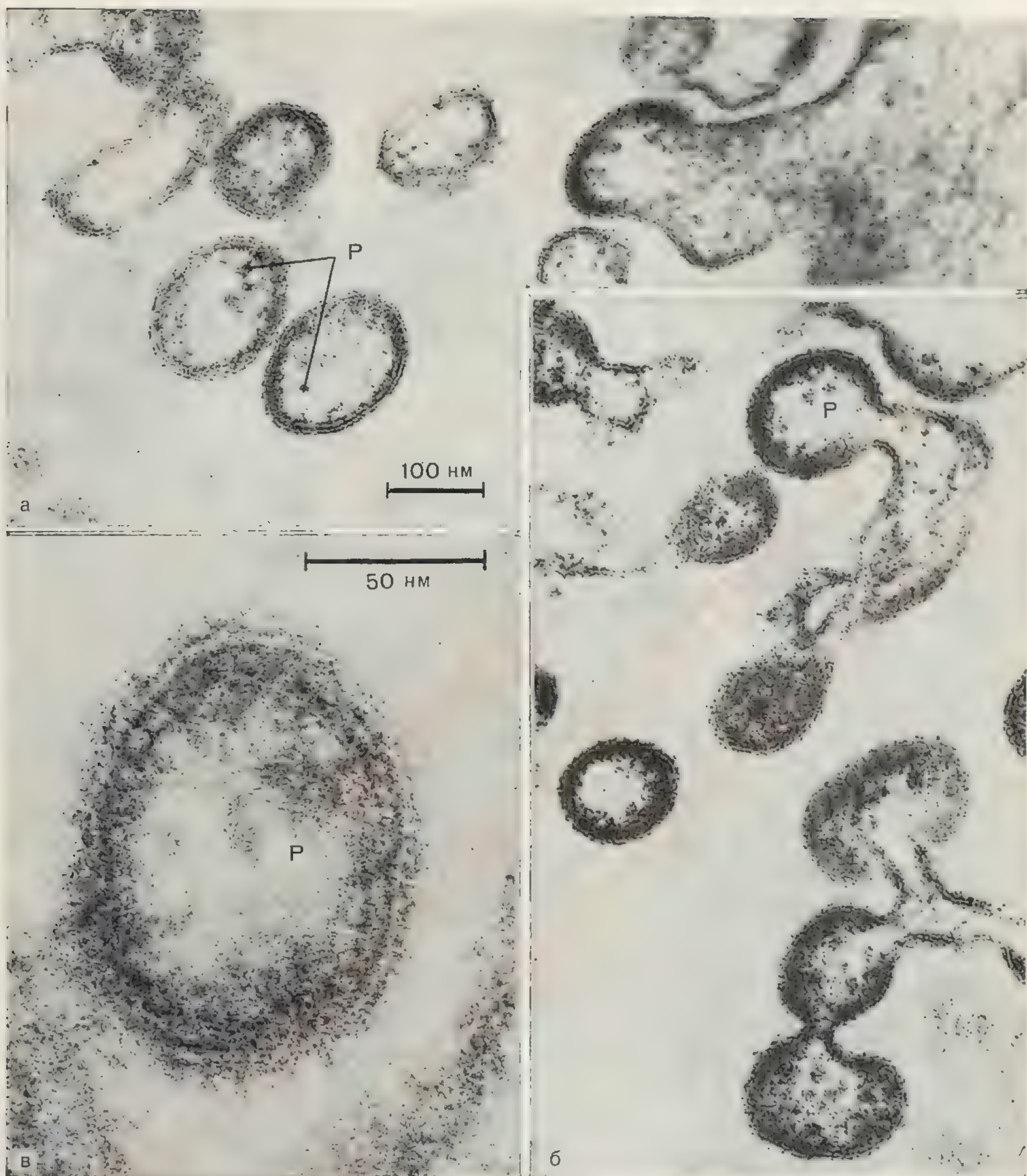
Диаметр полиморфных вирионов аренавирусов колеблется от 50 до 300 нм, в среднем составляя 110—130 нм (рис. 170). Оболочка покрыта короткими отростками длиной около 10 нм. Характерной особенностью аренавирусов является наличие в почкующихся и внеклеточных вирионах рибосом [Тимаков В. Д., Зуев В. А., 1977; Dalton et al., 1968; Murphy et al., 1969; Abelson et al., 1969; Dalton, 1973].

Вирионы коронавирусов также весьма полиморфны: в ультратонких срезах их диаметр составляет 80—160 нм [Oshiro, 1973], при негативном контрастировании — 70—200 нм [Macnangton, 1979]. Поверхность коронавирусов покрыта характерными булавовидными отростками длиной около 20 нм, которые и придают этому вирусу при негативном контрастировании вид солнечной короны. Нуклеонды коронавирусов имеют вид сфер неравномерной толщины. Вирусы формируются почкованием в цистернах гранулярного эндоплазматического ретикулума, где они постепенно накапливаются и выделяются из клетки при ее деструкции [Закстельская Л. Я., Шеболдов А. В., 1977; Oshiro, 1973].

В перевиваемых линиях клеток животных и человека персистирует множество различных вирусов [Быковский А. Ф. и др., 1973; Голубев Д. Б. и др., 1976; Бочаров Е. Ф., 1979]. Персистенция вирусов обнаружена и в перевиваемых линиях клеток насекомых, в частности, дрозофил (рис. 171).

Помимо идентифицированных и еще не идентифицированных вирусов, в культурах перевиваемых клеток могут персистировать и другие микроорганизмы — от микоплазм до протозоа включительно. Субмикроскопическая организация микоплазм, бактерий, L-форм бактерий, риккетсий, галлпровий, простейших изучена достаточно детально. Однако при размножении в перевиваемых линиях клеток эукариотов эти микроорганизмы могут фрагментироваться и образовывать частицы, по величине соизмеримые с ретровирусами. Эти мельчайшие («минимальные») формы обнаружены у риккетсий, хламидий (рис. 172), бактерий (рис. 173), L-форм бактерий и микоплазм (рис. 174).

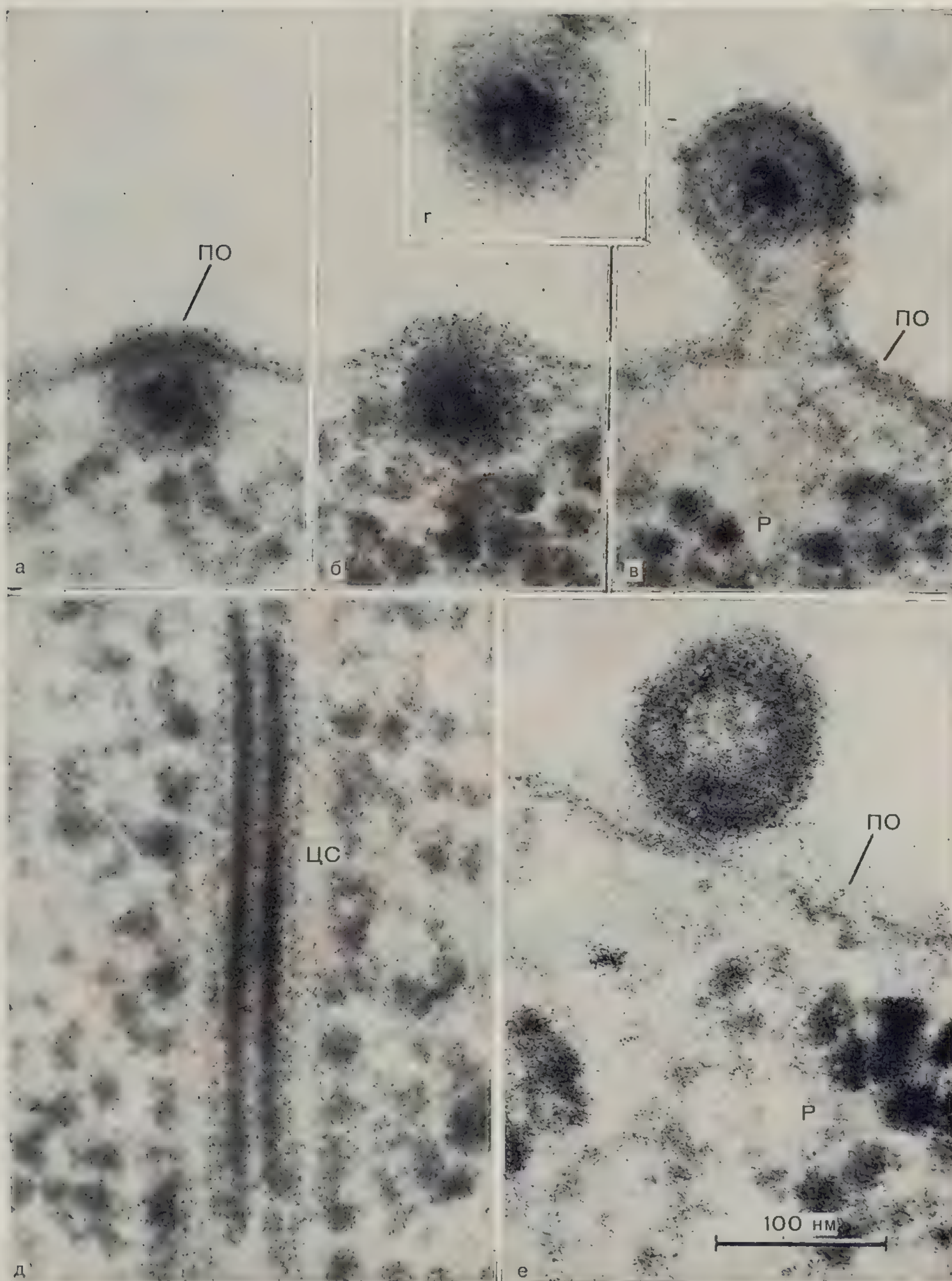
У хламидий обнаружено два типа «ми-



170. Этапы внутриклеточного развития
 аренавирусов в ультратонких срезах.
 а, б — формирование вирионов аренавируса на
 клеточной поверхности. Ув. 180 000; в —
 структура внеклеточного вириона аренавируса.
 Ув. 600 000. Р — внутривирусные рибосомы.

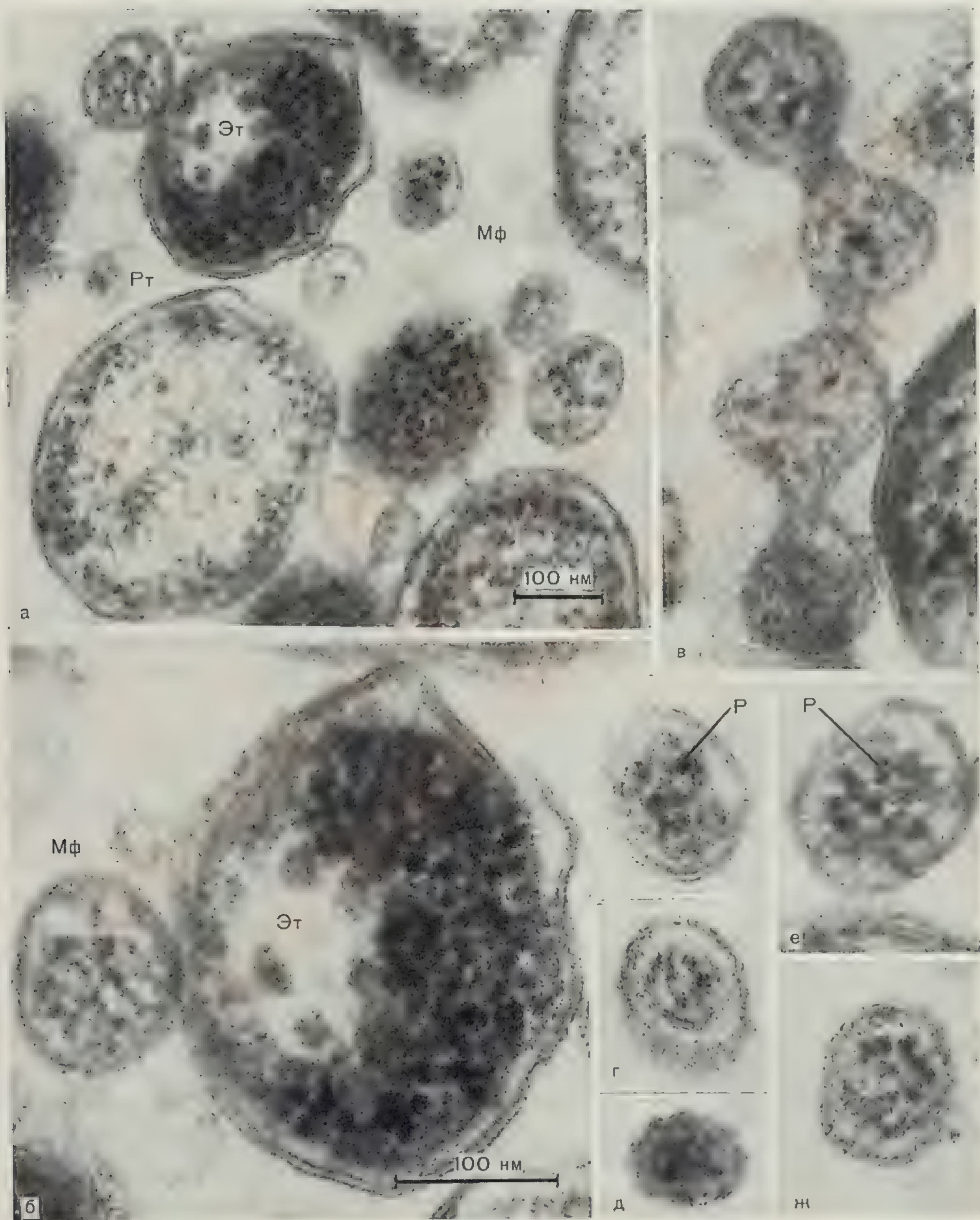
171. Морфология вирусов из перевиваемой культуры клеток дрозофилы. Ув. 300 000.
а—в—последовательные стадии почкования реовирусоподобных вирусов через плазматическую оболочку (ПО) клетки; г —

внеклеточный зрелый вирион; д — цитоплазматическая цилиндрическая структура (ЦС) в инфицированной клетке; е — внеклеточная частица, морфологически сходная с цистернавирусом типа А. Р — рибосомы.



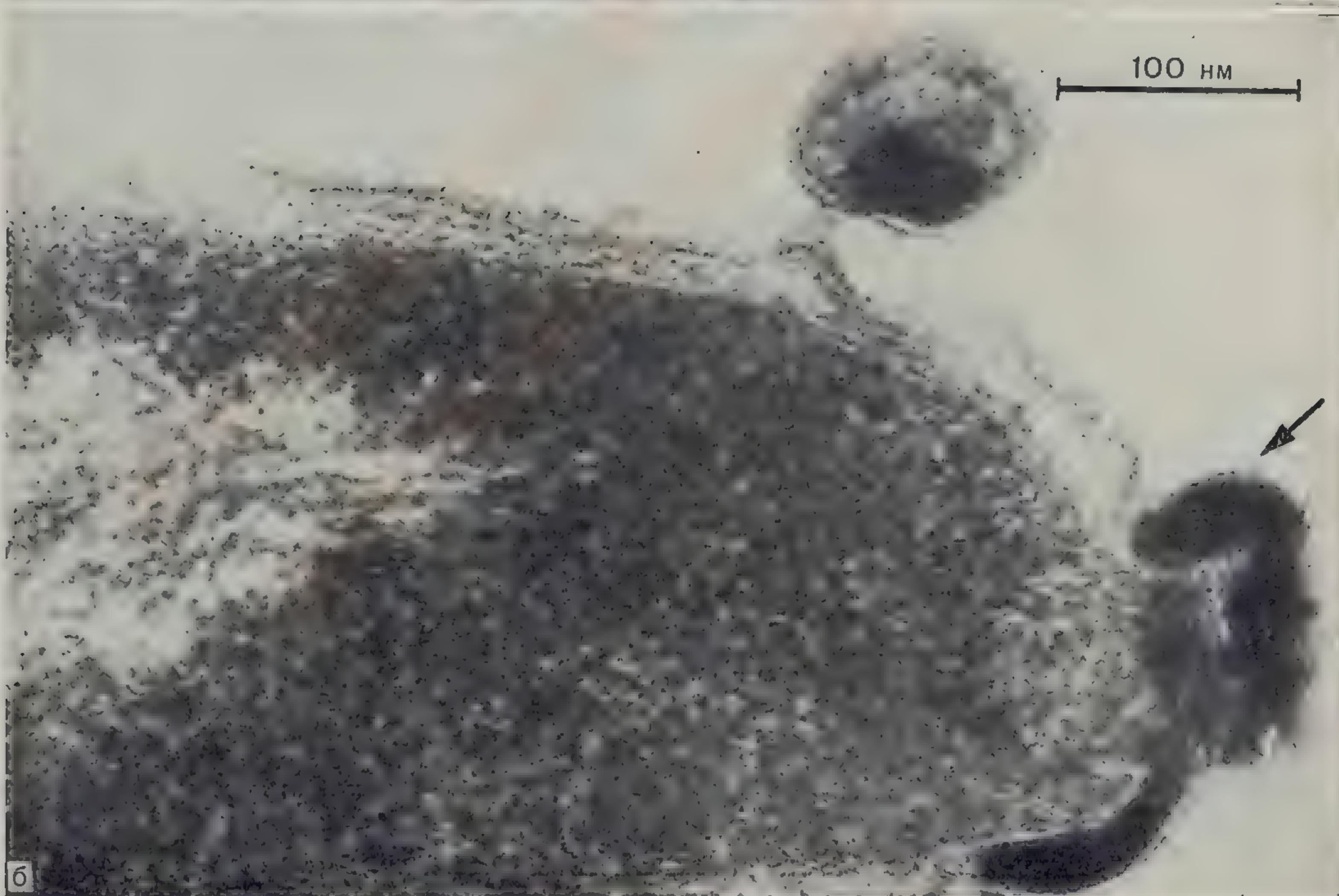
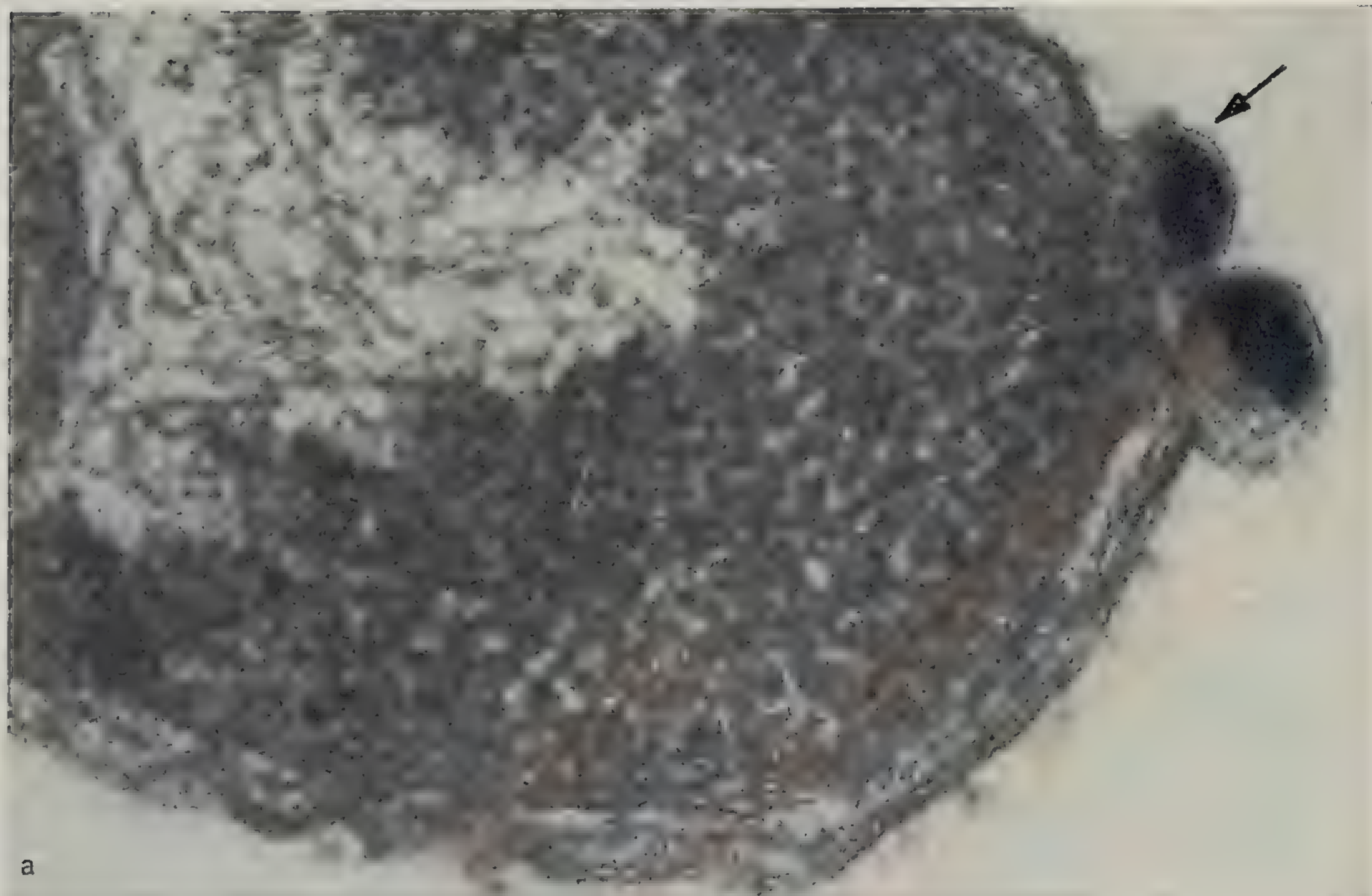
172. Морфология вегетативных и элементарных форм гальпиров (хламидий). Возбудитель болезни Рейтера (препарат В. Л. Попова).

а — вегетативные формы — ретикулярные тельца (Рт) и элементарное тельце (Эт). Ув. 130 000; б — фрагмент а. Ув. 300 000; в—ж — «минимальные» формы (Мф) гальпиров, локализирующиеся в полости цитоплазматического включения. Ув. 300 000. Р — рибосомы.



173. Фрагментация бактерий. Ув. 300 000.

а, б — последовательные стадии почкования
фрагментов бактериальной стенки (указаны
стрелками).

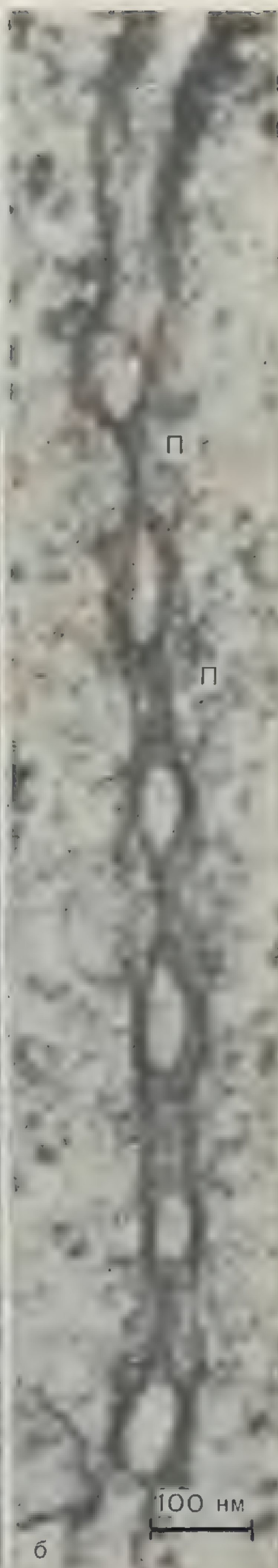
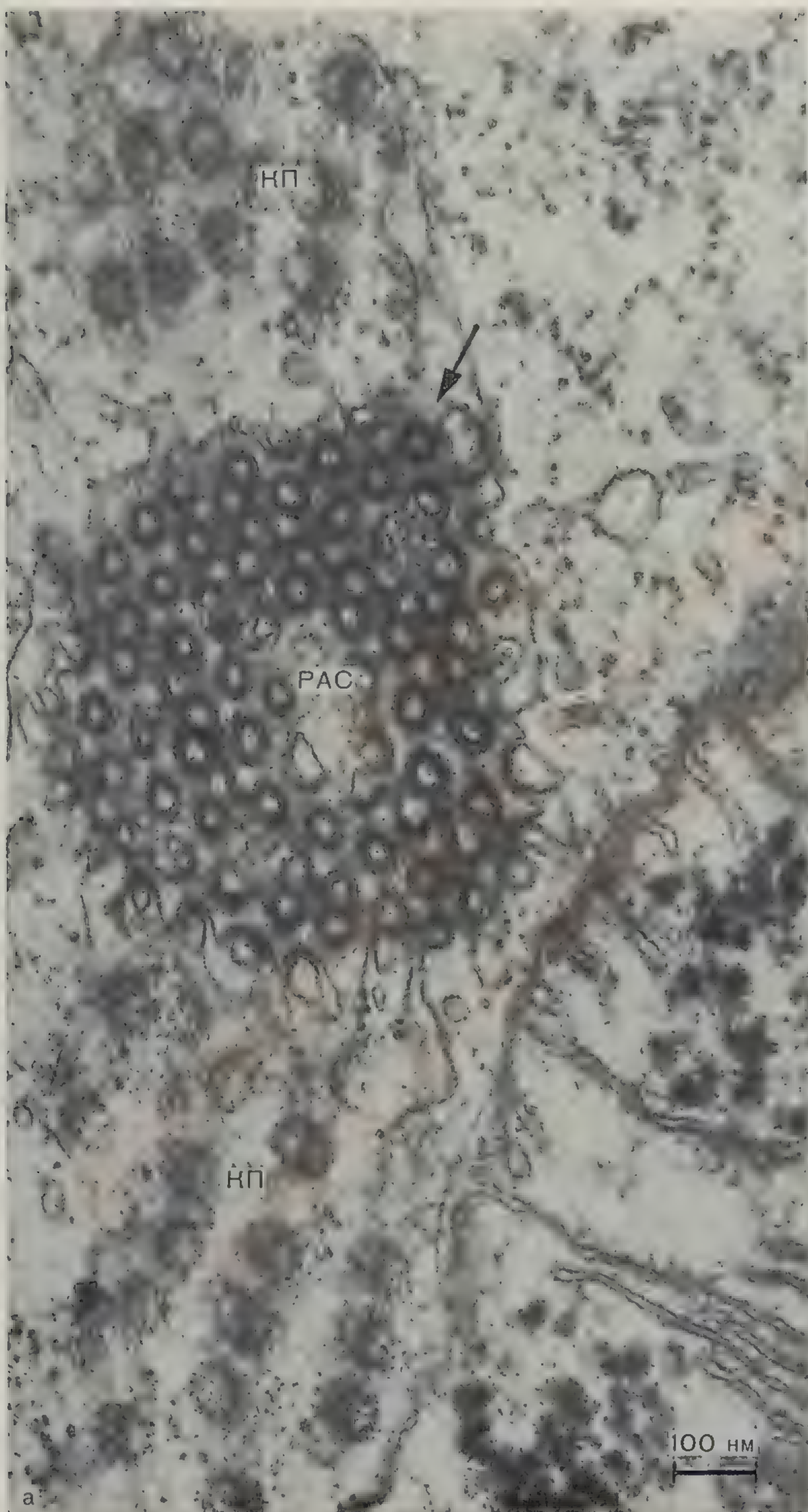


174. Морфология элементарных телец микоплазм (ЭТМ).

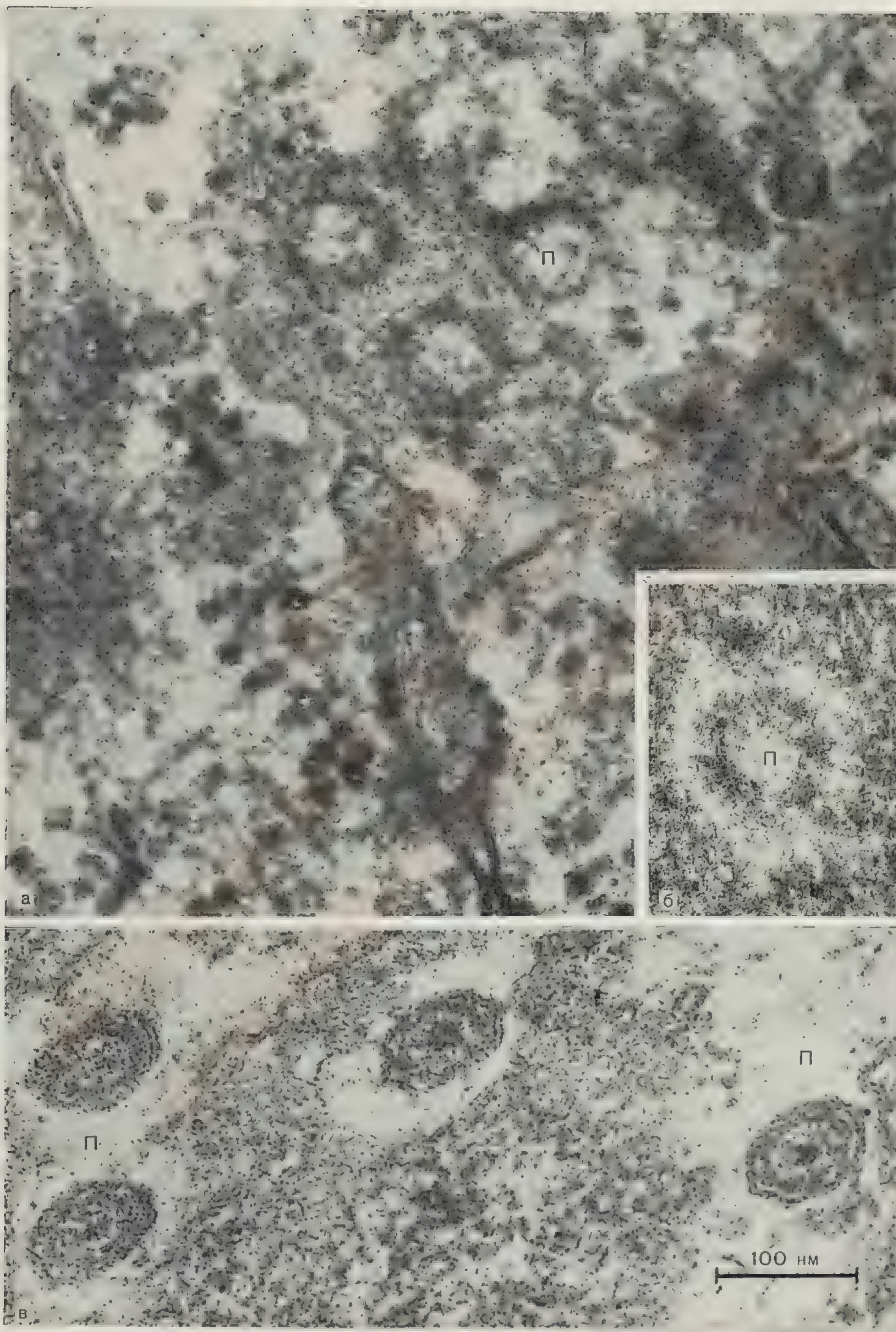
а — сравнительная структура элементарного тельца и вириона онковируса типа С (внизу). Ув. 300 000; б, в — структура плотных элементарных телец микоплазм и онковируса типа 1) внизу (справа). Ув. 600 000.



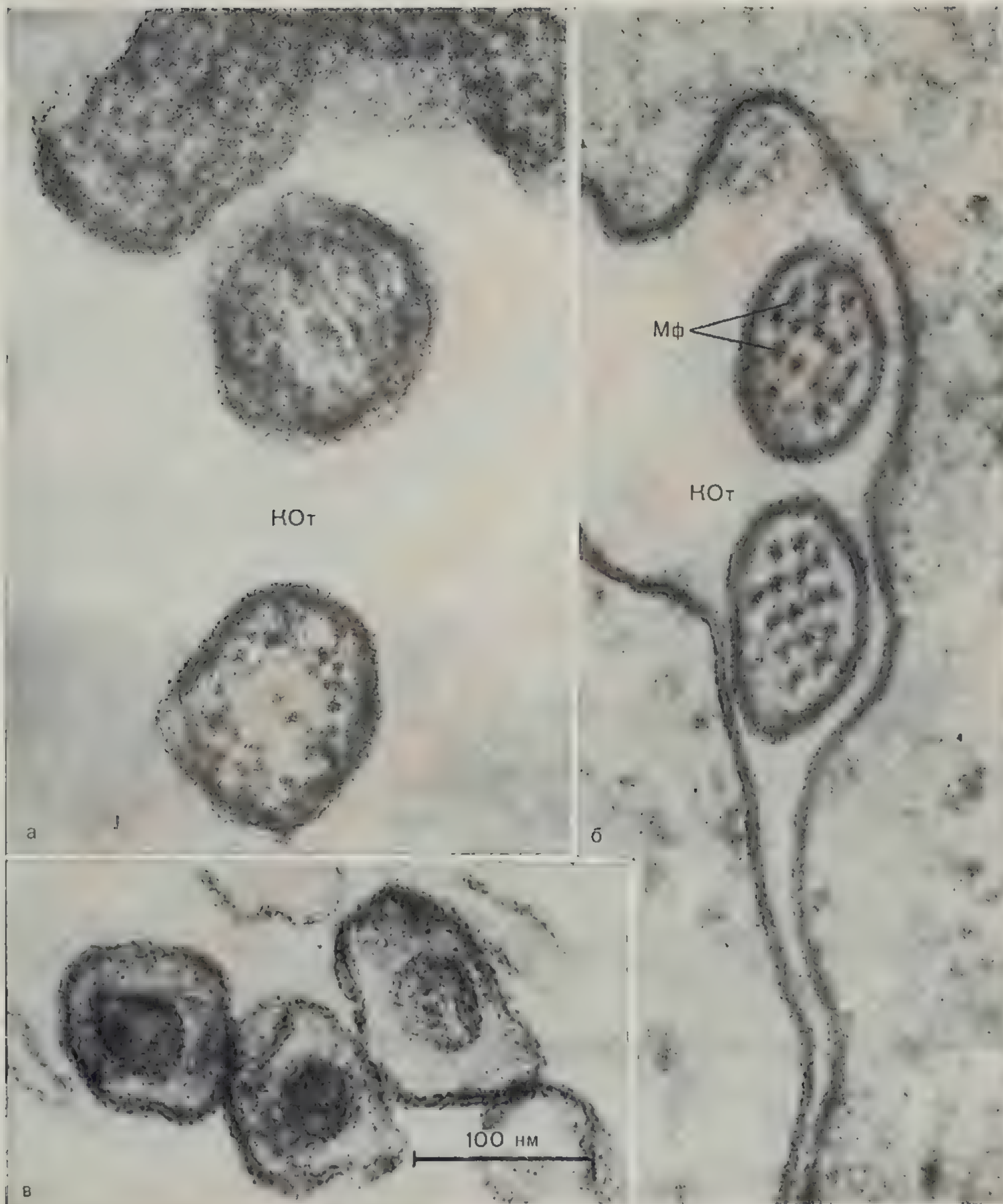
175. Морфология кольчатых пластинок (КП)
и ретикулярно-ампулярных структур (РАС).
а — тангенциальное рассечение РАС. Ув. 120 000;
б — перпендикулярное рассечение РАС. Ув. 170 000.
П — поры.



176. Морфология пор (П) оболочек ядер клеток
(а—в). Ув. 300 000.



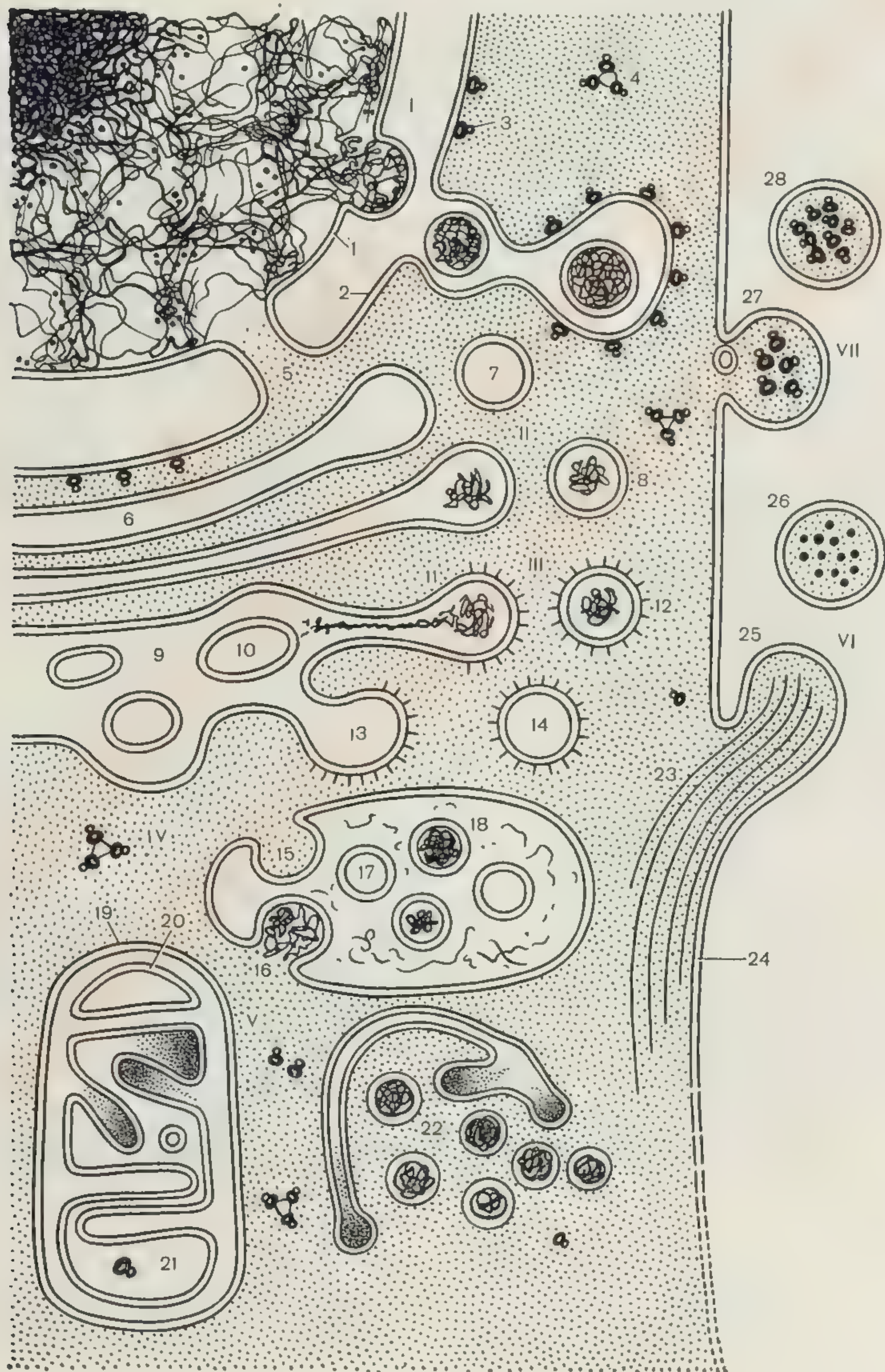
177. Ультраструктура различных форм (а—в)
клеточных отростков (КОг). Ув. 300 000.
Мф — микрофиламенты.

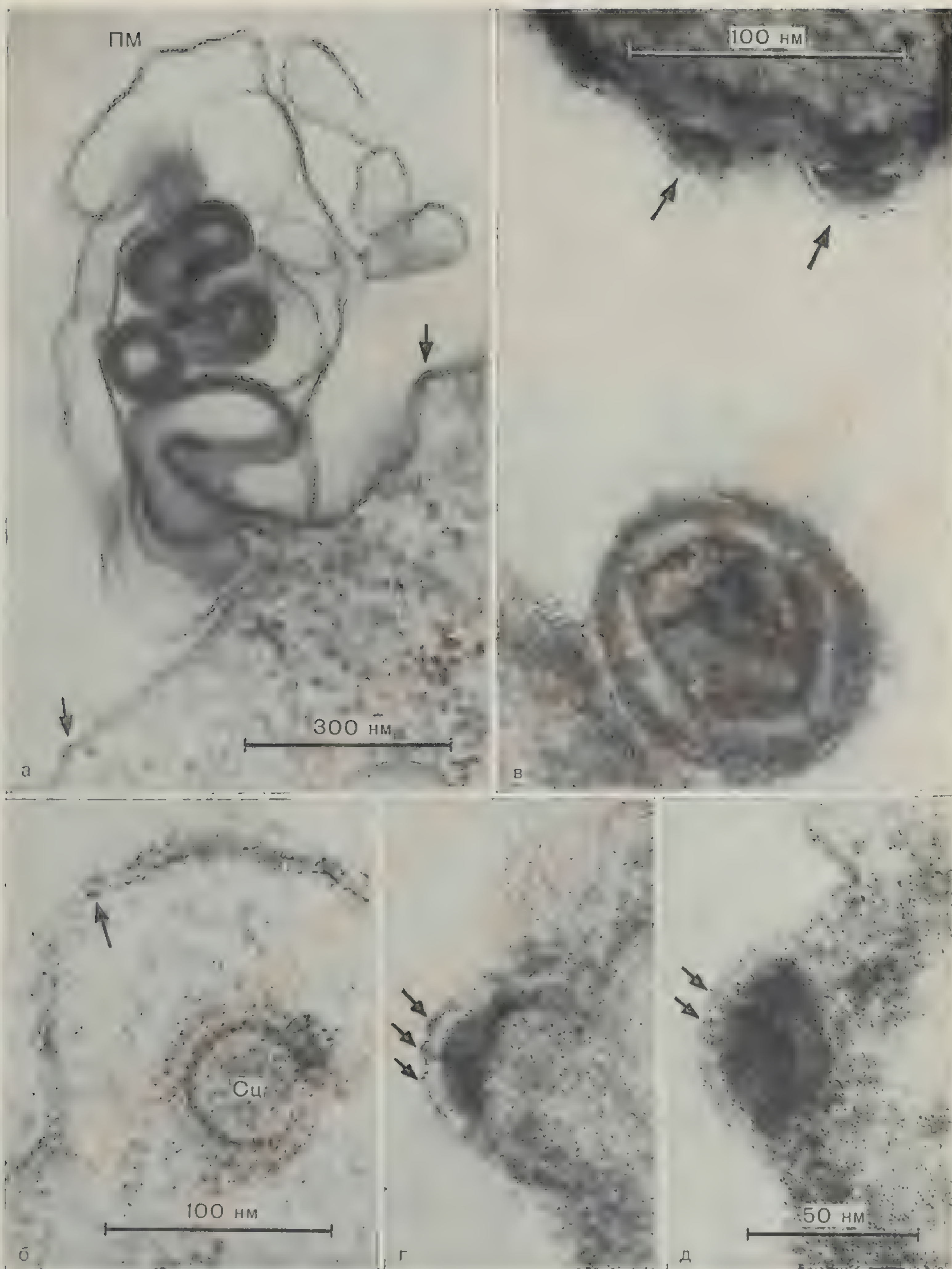


178. Морфология некоторых клеточных структур, имитирующих онковирусы типа С (схема).

I — последовательные стадии почкования фрагментов нуклеоплазмы в перинуклеарное пространство: 1, 2 — внутренняя и наружная мембраны оболочки ядра клетки; 3, 4 — рибосомы; 5 — пора в области ядра клетки. II — формирование секреторных гранул в зоне комплекса Гольджи: 6 — цистерны комплекса Гольджи; 7 — вакуоль, формирующаяся из цистерны комплекса Гольджи; 8 — отпочковавшаяся секреторная гранула. III — формирование опущенных везикул в зоне GERL-комплекса: 9 — цистерны GERL-комплекса; 10 — поры GERL-комплекса; 11—14 — последовательные стадии формирования

опущенных везикул. IV — образование мультивезикулярных телец: 15 — инвагинация мембраны; 16 — образование почки с цитоплазматическим содержимым; 17—18 — полые и полные везикулярные тельца. V — деструкция митохондрии: 19 — наружная и 20 — внутренняя оболочки митохондрии; 21 — внутренняя камера митохондрии; 22 — везикулярные тельца, образовавшиеся из крист при деструкции митохондрии. VI — морфология отростков клетки: 23 — тонофибриллы; 24 — плазмалемма; 25 — отросток клетки в продольном и 26 — в поперечном рассечении. VII — клазматоз; 27 — фрагментация участка клетки в процессе клазматоза; 28 — отделившийся от клетки фрагмент цитоплазмы, содержащий в центре скопление рибосом.





179. Структура мембраносом.

а — слущивание плазматической мембраны (ПМ) цитолитических Т-лимфоцитов. Ув. 100 000; б — начальная стадия формирования мембраносом (указано стрелкой). Внизу сердцевина (Сц)

онковируса типа А. Ув. 380 000; в—д—структура мембраносом на поверхности цитолитических Т-лимфоцитов. Стрелками указаны отростки на поверхности мембраносом; в — ув. 380 000; г, д—ув. 760 000.

нимальных» частиц: первые имеют двухконтурную оболочку, вторые представляют собой сферические компактные глобулы, содержащие скопления осмифильных тяжей и рибосом. Первый тип частиц выделяется из вегетативных форм и элементарных телец гальпровий в процессе почкования, второй — при фрагментации нуклеоида элементарных телец или вегетативных форм гальпровий.

У бактерий также можно выделить два типа «минимальных» частиц. Первый из них возникает в результате фрагментации периферических участков бактерий (см. рис. 173); второй образуется в процессе почкования, содержит нуклеонид и является одним из способов деления бактерий, например, *Francisella tularensis* [Авакян А. А. и др., 1972].

Морфология элементарных телец — L-форм бактерий и микроорганизмов семейства *Mycoplasmataceae* — изучена недостаточно детально [Тимаков В. Д., Каган Г. Я., 1973; Прозоровский С. В. и др., 1978; Кац Л. Н., 1980]. Однако по субмикроскопической организации эти образования (см. рис. 174) легко дифференцируются от онкогенных РНК-геномных вирусов [Клицинова Н. В., 1973].

В клетках эукариотов, в которых персистируют ретровирусы, при изучении методом электронной микроскопии обнаруживается ряд структур, которые, как отмечала Hagiwara (1973), по форме, размерам и некоторым деталям внутренней организации можно принять за онковирусы. Необходимо отметить, что при достаточно высоком качестве электроно-микроскопических фотографий дифференцировка вирусов и любых органондов клетки несложна, однако при работе на небольших увеличениях электронного микроскопа эта проблема остается. В частности, особенно

трудно дифференцировать так называемые опушенные («coated») везикулы, в которых при достаточно хорошей разрешающей способности электронного микроскопа легко выявляются двухконтурная оболочка и длинные (до 25 нм) отростки, радиально отходящие от поверхности везикул. По данным Kanaseki, Kadota (1969), эти структуры представляют собой не отростки, а сетчатое образование.

Онковирусы типа А и С могут имитировать при определенном рассеянии в ультратонких срезах и другие органонды клетки, в частности, митохондрии. Внутрицитоплазматические нуклеониды типа А необходимо дифференцировать от кольчатых (пористых) пластинок (рис. 175), так называемых ретикулярно-ампулярных (см. рис. 175) и ретикулярно-кристаллоидных (см. рис. 24) структур и пор оболочки ядра клетки (рис. 176).

Онковирусы типа С необходимо отличать от элементов фагосома-лизосомального аппарата клетки, мультивезикулярных гранул. Почкования онковирусов могут напоминать, например, выделяющиеся из клетки мелиноподобные структуры, клеточные отростки (рис. 177) и особенно различные формы внутриклеточных, выделяющихся и внеклеточных секреторных гранул. Особенно много подобных структур обнаруживается при лейкозах человека. На рис. 178 схематически изображены некоторые формы клеточных структур, имитирующих онковирусы типа С.

В 1978 г. на поверхности цитолитических Т-лимфоцитов, взаимодействующих с опухолевыми клетками-мишенями, были обнаружены особые структуры, названные «мембраносомами» [Быковский А. Ф. и др., 1978], которые необходимо дифференцировать от минимальных форм онковирусов (рис. 179).

В атласе обобщены материалы по ультраструктуре и внутриклеточному развитию всех известных онкогенных вирусов. Основное внимание уделено описанию РНК-геномных онковирусов, которые являются основными возбудителями различных форм рака, сарком и лейкоза у животных. Однако биологическое значение многих других представителей многочисленного семейства ретровирусов остается неизвестным. Прежде всего это имеет отношение к так называемым эндогенным ретровирусам, способным существовать в форме провирусной ДНК в составе клеточного генома всех клеток определенного вида животного и передаваться генетическим путем подобно обычным клеточным генам. Вследствие этого возникло предположение, что гены этих вирусов фактически являются клеточными генами, собирающимися в вирусный геном в ходе онтогенеза, а сами вирусы могут возникать на основе процесса, связанного с переносом генетической информации между клетками в эмбриогенезе [Temin, 1971], и участвовать в дифференцировке клеток эукариотов [Ирлин И. С., Быковский А. Ф., Ждапов В. М., 1973]. Установлено, что онкогены ретровирусов, т. е. гены, ответственные за возникновение и поддержание опухолевой трансформации клетки, происходят из клеточного генома [Stehelin et al., 1976], как это и предполагалось ранее [Альтштейн А. Д., 1973]. Недавно получены данные о гомологии некоторых нуклеотидных последовательностей аденовируса человека с нуклеотидными последовательностями клеток человека и высших приматов [Jones, 1979].

Все это указывает на необходимость значительно активизировать поиски новых вирусов у человека (в норме и при различных патологических состояниях). Методы электронной микроскопии имеют исключительно большое значение в обнаружении новых инфекционных и онкогенных вирусов, прежде всего новых представителей семейства ретровирусов. Однако исследователь должен хорошо знать не только структуру вирионов и внутриклеточных форм развития всех известных вирусов человека и животных, но и много-

численные аномалии этих вирусов, а также субмикроскопическую организацию органоидов клеток эукариотов и их изменение в процессе, например, естественной деструкции; строение микоплазм, L-форм бактерий и других микроорганизмов. Только в этом случае специалист в области электронной микроскопии сможет проводить достоверную морфологическую дифференцировку и классификацию обнаруживаемых структур, а его работы будут лишены артефактов, которые все еще, к сожалению, нередко встречаются как в отечественной, так и в зарубежной литературе. Особенно часто подобные ошибки возникают при описании внеклеточных онковирусов типа С, которые на фотографиях, выполненных при небольших инструментальных увеличениях — 20 000—40 000¹ и невысокой разрешающей способности электронных микроскопов, трудно дифференцировать от элементарных тел микоплазм, «опушенных» везикул и ряда других структур клеток эукариотов и прокариотов. Частота ошибок увеличивается при изучении методом электронной микроскопии клеток злокачественных новообразований человека, когда желание обнаружить «вирусоподобные частицы» чрезвычайно велико.

Авторы надеются, что материалы атласа помогут молодым исследователям в напряженной работе по обнаружению новых вирусов человека. Это приведет к уменьшению энтропии в системе существующих представлений о классификации, структуре и морфогенезе онкогенных вирусов.

В обзоре докладов, представленных на «Колд Спринг Харбор Симпозиуме» в 1979 г., известный специалист в области онковирусологии G. Todaro подчеркивал, что рак является многофакторным заболеванием и вирусы целесообразно рассматривать в качестве одного из факторов риска. Обнаружение вируса в опухоли не означает еще, что именно этот вирус вызвал образование опухоли, но и отсутствие

¹ При таких увеличениях электронных микроскопов работают более 95% всех специалистов в области вирусологии и цитологии.

его в опухоли не является прямым доказательством того, что вирус не принимал участия в превращении нормальной клетки в раковую. Автор считает, что три группы вирусов могут играть существенную роль в этиологии рака у человека: 1) вирус Эпштейна-Барр как основной фактор риска при лимфоме Беркитта и пазофарингеальной карциноме. Кофактором в данном случае может быть иммунодепрессия, генетические факторы и заболевание малярией. 2) Вирусы группы папилломы, вызывающие доброкачественную клеточную пролиферацию эпидермиса, клетки которого могут впоследствии малигнизироваться. 3) Вирус гепатита В как основной фактор риска при гепатоцеллюлярной карциноме. Эпидемиологические исследования, проводимые на протяжении ряда лет, позволили предположить наличие тесной связи между инфекцией, вызываемой вирусом гепатита В, и первичным раком печени, особенно часто встречающимся в Африке и Азии. Эти предположения нашли подтверждение в 1978 г., когда специфический для вируса гепатита В ген был обнаружен в хромосомах клеток первичной гепатомы человека. Предполагают, что механизм онкогенного действия вируса гепатита В сходен с механизмом индукции опухолей онкогенными РНК-содержащими вирусами [Нобом, 1980].

В последние годы были впервые получены доказательства в пользу того, что лейкоз у человека может вызываться ретровирусами [Poiesz et al., 1981; Kalyanaraman et al., 1981; Weiss, 1981; Gallo et al., 1982]. В лаборатории проф. R. Gallo в Национальном институте рака (США) в 1980 году был выделен ретровирус типа С (HTLV_{CR}) из Т-лимфоцитов (нативных и культивируемых *in vitro*), полученных из японского лимфоузла больного С. Р. с кожной Т-клеточной лимфомой (*mucoides fungoides*). Сходный вирус (HTLV_{MB}) выделен из Т-лимфоцитов периферической крови больного М. В. с другой формой Т-клеточной лимфомы (синдром Сезари). Показана интеграция генетического материала вируса с геномом лейкоцитов у больных людей и его отсутствие в геноме нормальных клеток, т. е., по-видимому, вирус является экзогенным. По данным молекулярной гибридизации и иммунологической реактивности основного белка вируса р24 вирус является уникальным. При исследовании антител к р24 в сыворотках больных и здоровых людей оказалось, что более чем в 90% случаев преципитирующей активностью обладают только сыворотки самих больных лимфомами, но не больных с различными другими неоплазиями. Таким образом, впервые показано наличие специфического иммунного ответа к вирусам типа С у человека.

Японские ученые под руководством д-ра Hinuma в Институте вирусологии г. Киото также выделили подобный вирус из культур клеток больных с Т-клеточной лимфомой [Lewin, 1981]. Авторам удалось получить трансформацию лимфоцитов пупочного канатика при кокультивировании с клетками, продуцирующими вирус. Японские ученые показали, что у всех больных с Т-клеточной лимфомой имеются антитела к вирусу. Кроме того, в районе, где это заболевание эндемично, антитела выявляются у 100% больных Т-клеточной лимфомой и у 20—40% здоровых людей. По заключению д-ра Hinuma эпидемиология этой инфекции получила конкретное выражение, но способ передачи вируса пока неизвестен. Описаны случаи бессимптомного носительства этого вируса у членов семьи больного Т-клеточной лейкемией [Miyoshi et al., 1982]. Электронно-микроскопически удалось обнаружить в культурах HUT-102, CTCL-2, CTCL-3, небольшое количество онковируса.

В клетках HUT-102 обнаружены внеклеточные частицы с характерной ультраструктурой онковирусов типа С. Величина вирионов HTLV составляет, по нашим данным, 100—120 нм; диаметр электроно-оптически плотных центрально расположенных сердцевин равняется ~ 70 нм; толщина сфер сердцевин внеклеточных или почкующихся на поверхности лимфобластов онковирусов типа А не превышает 10—12 нм.

С помощью электронной микроскопии онковирусы обнаружены в плацентах 8 видов приматов, включая человека, а также в плацентах мышей, морских свинок и кроликов [Ranem, 1979]. Онковирусы почкуются от клеток синцитиотрофобласта. Из плаценты павианов удалось выделить эндогенный вирус М-7, однако многочисленные попытки выделить онковирусы из плаценты человека окончились неудачей, несмотря на то что антиген, родственный ретровирусному белку р30, обнаружен в человеческих синцитиотрофобластах, а антитела к нему выявлены в сыворотке из пуповины [Suni et al., 1981].

Материалы, изложенные в атласе, свидетельствуют о значительной роли метода электронной микроскопии в обнаружении, индикации и изучении различных представителей онкогенных вирусов.

Первые онкогенные вирусы человека обнаружены! Однако пройдут еще годы напряженного труда многих исследователей всего мира, в том числе и специалистов по электронной микроскопии, годы размышлений, неудач и сомнений, годы черновой кропотливой экспериментальной работы и редкие миги удач, прежде чем можно будет, по-видимому, достаточно просто ответить на вопрос: «Как победить рак?».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авакян А. А. Атлас анатомии простейших, патогенных для человека и животных. — М.: Медицина, 1976.—312 с.
- Авакян А. А., Быковский А. Ф. Атлас анатомии и онтогенеза вирусов человека и животных.— М.: Медицина, 1970.—271 с.
- Авакян А. А., Кац Л. Н., Павлова Н. Б. Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных. — М.: Медицина, 1972.—183 с.
- Агеенко А. И. Механизмы вирусного онкогенеза. — М.: Медицина, 1978.— 384 с.
- Альтштейн А. Д., Каверин Н. В. О происхождении вирусных генетических систем.—Ж. Всесоюзн. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева, 1980, т. XXV, № 4, с. 383—390.
- Альтштейн А. Д., Герасина С. Ф., Захарова Л. Г. Онкорнавирус типа С в культуре перевиваемых клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ). — Вопр. вирусол., 1973, № 2, с. 222—226.
- Альтштейн А. Д., Захарова Л. Г., Жданов В. М. Выявление общих антигенных детерминант в оболочках вирионов типа D (Мезон—Пфайзер) и типа С млекопитающих с помощью реакции преципитации вирионов. — Вопр. вирусол., 1978, № 3, с. 309—314.
- Анджапаридзе О. Г., Лиознер А. Л., Корчак О. Б. и др. Иммунологические характеристики онкорнавируса ЛПВ, продуцируемого линиями человеческих клеток Т-9. — Вопр. вирусол., 1975, № 6, с. 660—666.
- Анджапаридзе О. Г., Лиознер А. Л., Степанова Л. Г. Лейкозоподобный вирус, выделенный от больного гемоцитобластомом, в экспериментальной системе на сприйских хомяках. Сообщение I. Общая характеристика обнаруженной экспериментальной системы.— Вопр. вирусол., 1972, № 1, с. 12—17.
- Анджапаридзе О. Г., Лотте В. Д., Степанова Л. Г., Анджапаридзе А. Г. Сравнительное изучение интенсивности продукции онкорнавирусов ЛПВ клетками линии Т-9 и зараженной культуры диплоидных клеток человека.— Вопр. вирусол., 1975, № 6, с. 655—659.
- Бочаров А. Ф., Делимбетова Г. А., Жданов В. М. О возможной вертикальной передаче онкорнавирусов у человека.—Вопр. вирусол., 1974, № 2, с. 223—226.
- (Букринская А. Г., Миллер Г. Г., Лебедева Е. Н., Агафонова Л. В.) Bukrinskaya A. G., Miller G. G., Lebedeva E. N., Agaphonova L. V. Properties of intracytoplasmic A particles isolated from oncornavirus-producing human cells.—J. Virol., 1974, vol. 14, N 4, p. 924—933.
- (Букринская А. Г., Миллер Г. Г., Лебедева Е. Н., Жданов В. М.) Bukrinskaya A. G., Miller G. G., Lebedeva E. N., Zhdanov V. M. Intracellular virus-specific structures and RNAs in oncornavirus-producing human cells. — J. Virol., 1974, vol. 13, N 2, p. 478—487.
- Букринская А. Г., Миллер Г. Г., Лебедева Е. Н. и др. Свойства А-частиц, выделенных из клеток перевиваемых линий человека. — Вопр. вирусол., 1974, № 5, с. 557—563.
- Быковский А. Ф., Клицунова Н. В. Строение необычных («минимальных») форм онкорнавирусов типа А и С. — Докл. АН СССР, 1975, т. 224, № 1, с. 226—227.
- (Быковский А. Ф., Ирлин И. С., Жданов В. М.) Bykovsky A. F., Irlin I. S., Zhdanov V. M. A new group of oncornaviruses. — Arch. ges. Virusforsch., 1974, vol. 45, N 2, p. 144—148.
- Быковский А. Ф., Клицунова Н. В., Глинских И. И. Электронно-микроскопическое исследование обычных и «минимальных» форм онкорнавирусов клеток КЛЧКМ. — Вопр. вирусол., 1977, № 1, с. 76—82.
- Быковский А. Ф., Ершов Ф. И., Кармышева В. Я. и др. Атлас вирусной цитопатологии. — М.: Медицина, 1975.— 260 с.
- Быковский А. Ф., Клицунова Н. В., Миллер Г. Г. и др. Выявление онкорнавирусов типа А и В в перевиваемых линиях клеток карциномы шейки матки человека. — Вопр. вирусол., 1973, т. 19, № 8, с. 68—72.
- (Быковский А. Ф., Миллер Г. Г., Ершов Ф. И. и др.) Bykovsky A. F., Miller G. G., Yershov F. I. et al. B-Type oncornavirus isolated from continuous human cancer cell lines. — Arch. ges. Virusforsch., 1973, vol. 42, N 1, p. 21—35.
- Быковский А. Ф., Миллер Г. Г., Клицунова Н. В. и др. Морфология онкорнавирусов типа А, В и С перевиваемых линий клеток человека и животных. — Вопр. вирусол., 1973, № 2, с. 215—221.
- Гендон Ю. З. Молекулярная генетика вирусов человека и животных. — М.: Медицина, 1975.— 303 с.
- Горохова Л. В. Формирование онкорнавирусов типа А в митохондриях клеток культуры опухоли хомячка, индуцированной вирусом саркомы Рауса.—Вопр. вирусол., 1973, № 5, с. 607—609.
- Жданов В. М., Быковский А. Ф., Ильин К. В. Онкогенные вирусы типа D. — М.: Медицина, 1979.— 104 с.
- Жданов В. М., Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. и др. Выделение лейковируса из культуры клеток человеческого происхождения. — Вопр. вирусол., 1972, № 4, с. 419—427.
- (Жданов В. М., Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. и др.) Zhdanov V. M., Soloviev V. D., Bektemirov T. A. et al. Isolation of oncornaviruses from

- continuous human cell cultures. — Intervirology, 1973, vol. I, N 1, p. 19—26.
- (Жданов В. М., Трушинская Г. И., Мазуренко Н. И. и др.) Zhdanov V. M., Trushinskaya G. N., Mazurenko N. N. et al. Possible association of oncornavirus type D with some forms of human cancer. — Neoplasma, 1975, vol. 22, N 1, p. 13—21.
- Зильбер Л. А. Вирусная теория происхождения злокачественных опухолей. — М.: Медгиз, 1946. — 71 с.
- Зильбер Л. А. О взаимодействии опухолевых вирусов и клеток (вирусо-генетическая концепция генеза опухолей). — Вопр. вирусол., 1961, № 1, с. 3—9.
- Зильбер Л. А. Вирусо-генетическая теория возникновения опухолей. — М.: Наука, 1968. — 286 с.
- Зильбер Л. А., Ирлин И. С., Киселев Ф. Л. Эволюция вирусо-генетической теории возникновения опухолей. — М.: Наука, 1975. — 344 с.
- Ильин К. В., Крюкова И. И. Дифференциация вируса типа D из перевиваемых клеток человека (вирус Ильина—Быковского) и обезьяньего вируса Мезон—Пфайзера по антигенам вирусных оболочек. — Бюлл. эксп. биол., 1977, № 8, с. 208—210.
- Ильин К. В., Быковский А. Ф., Спуре Ж. Ж. Обнаружение лейкозоподобных вирусов А и В в клетках культуры стабильной клеточной линии карциномы гортани человека Иер-2. — Бюлл. экпер. биол., 1972, № 2, с. 68—89.
- Ильин К. В., Быковский А. Ф., Жданов В. М. Онкорнавирус типа В из клеток карциномы гортани человека. — Вопр. вирусол., 1972, т. 49, с. 494—499.
- (Ильин К. В., Быковский А. Ф., Жданов В. М.) Ilyin K. V., Bykovsky A. F., Zhdanov V. M. An oncornavirus isolated from human cancer cell line. — Cancer, 1973, vol. 32, N 1, p. 89—96.
- (Ильин К. В., Ирлин И. С., Быковский А. Ф. и др.) Ilyin K. V., Irlin I. S., Bykovsky A. F. et al. Immunologic study of an oncornavirus isolated from a human cell line. — Cancer, 1974, vol. 34, N 3, p. 532—538.
- Ирлин И. С., Быковский А. Ф., Жданов В. М. и др. Поливиrogenия и канцерогенез. — Вопр. вирусол., 1973, № 2, с. 230—234.
- Кукайн Р. А., Нагаева Л. И., Чапенко С. В. и др. Выявление онкорнавирусов типа С у крупного рогатого скота со спонтанным и экспериментально-воспроизведенным лимфолейкозом. — Вопр. онкол., 1973, т. 19, № 7, с. 44—48.
- Лапин Б. А., Яковлева Л. А., Инджия Л. В. Пассирование вирусного лейкозоподобного заболевания у обезьян на обезьянах *M. speciosa* от обезьян, первично инокулированных лейкозной кровью человека. — Вестн. АМН СССР, 1973, № 4, с. 10—20.
- Лапин Б. А., Яковлева Л. А., Кокоша Л. В. и др. О различных типах онкогенных вирусов, ассоциированных с гемобластозом обезьян. — Докл. АН СССР, 1975, т. 224, № 4, с. 950—952.
- Мазуренко Н. И. Роль вирусов в этиологии лейкозов. — Киев: Госмедиздат УССР, 1962. — 217 с.
- Миллер Г. Г. Вирусная контаминация клеточных культур. — В кн.: Голубев Д. В., Сомнина А. А., Медведева И. И. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии. — Л.: Медицина, 1976, с. 155—205.
- Миллер Г. Г., Букринская А. Г., Быковский А. Ф. Морфологическая характеристика вирусспецифических структур, изолированных из клеток человеческого происхождения, продуцирующих онкорнавирус. — В кн.: Вирусы рака и лейкоза. — М., 1974, с. 68—77.
- (Миллер Г. Г., Жданов В. М., Лозинский Т. Ф., Волкова М. Я.) Miller G. G., Zhdanov V. M., Lozinsky T. F., Volkova M. Y. Production of an oncornavirus by the continuous human cell line Detroit-6. — J. Nat. Canc. Inst., 1974, vol. 52, N 2, p. 357—364.
- Миллер Г. Г., Крюкова И. И., Мазуренко Н. И., Жданов В. М. Два типа вирионов онкорнавируса в клетках эпителия из женского молока. — Вопр. вирусол., 1975, № 4, с. 429—434.
- Развитие онкологии в СССР в 1971—1975 годах / Под ред. И. И. Блохина, И. П. Папалкова. — М.: Медицина, 1977. — 208 с.
- Соловьев В. Д., Хесин Я. Е., Быковский А. Ф. Очерки по вирусной цитопатологии. — М.: Медицина, 1979. — 320 с.
- Тимофеевский А. Д. Роль вирусов в возникновении опухолей. — М.: Медгиз, 1961. — 188 с.
- Чаклин А. В. Проблема века (онкология: поиски и решение). — М.: Знание, 1976. — 143 с.
- Aaronson S., Todaro G., Scolnick E. Induction of C-type viruses from clonal lines of virus-free BALB/3T3 cells. — Science, 1971, vol. 174, p. 157—159.
- Ahmed M., Schidlovsky G. Electron microscopic localization of herpes-like virus particles in Marek's disease. — J. Virol., 1968, vol. 2, N 6, p. 1443—1457.
- Ahmed M., Schidlovsky G., Korol W. et al. Occurrence of Mason-Pfizer monkey virus in healthy rhesus monkeys. — Cancer Res., 1974, vol. 34, p. 3504—3508.
- Anderson H., Jeppesen T. Virus-like particles in guinea pig oögonia and oocytes. — J. Nat. Canc. Inst., 1972, vol. 49, p. 1403—1410.
- Bader J. P. Reproduction of RNA tumour viruses. — Compr. Virol., 1974, vol. 4, p. 253—333.
- Bernhard W. Electron microscopy of tumor cells and viruses. — Cancer Res., 1960, vol. 20, N 5, p. 712—727.
- Bernhard W., Guerin M. Presence de particules l'aspect viral dans les tissus tumoraux de Souris atteintes de leucemie spontanee. — Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris), 1958, vol. 247, p. 1802—1805.
- Biczysko W., Solter D., Graham C., Kaprowski H. Synthesis of endogenous type-A virus particles in parthenogenetically stimulated mouse eggs. — J. Nat. Cancer Inst., 1974, vol. 52, p. 483—489.
- Bolognesi D. P., Frank H., Montelaro R. C. Assembly of type C oncornaviruses: a model. — Science, 1978, vol. 199, p. 183—186.
- Bolognesi D. P., Montelaro R. C., Sullivan S. J. et al. A model for assembly of type-C oncornaviruses. — Med. Microbiol. Immunol., 1977, vol. 164, p. 97—113.
- Bronson D. L. et al. Morphologic evidence for retrovirus production by epithelial cells derived from a human testicular tumor metastasis: brief communication. — J. Nat. Cancer Inst., 1978, vol. 60, N 6, p. 1305—1308.
- Brown D. T., Westphal M., Burlingham B. T. et al. Structure and composition of adenovirus type 2 core. — J. Virol., 1975, vol. 16, N 2, p. 365—387.
- Calafat J., Ressang A. A. Morphogenesis of bovine leukemia virus. — Virology, 1977, vol. 80, p. 42—53.
- Chopra H. C., Mason N. M. A new virus in a spontaneous mammary tumor of a rhesus monkey. — Cancer Res., 1970, vol. 30, N 8, p. 2081—2086.
- Dahlberg J., Tronick S., Aaronson S. Immunological relationships of an endogenous guinea pig retrovirus with prototype mammalian type B and type D retroviruses. — J. Virol., 1980, vol. 33, N 1, p. 522—530.
- Dalton A. J., Haguénau F. Ultrastructure of animal viruses and bacteriophages — an atlas. — New York: Acad. Press, 1973.

- Dalton A. J., Melnick J. L., Bauer H. et al. The case for a family of reverse transcriptase viruses: Retroviridae. — Intervirology, 1974, vol. 4, N 4, p. 201—206.
- De Harven E. Morphology of murine leukemia viruses.—In: Experimental leukemia/Ed. M. Rich.—New York, 1978, p. 97—129.
- De Harven E. Remarks on the ultrastructure of type A, B and C virus particles. — Adv. Vir. Res., 1974, vol. 19, p. 221—264.
- De Harven E., Yohn D. The fine structure of the yaba monkey tumor poxvirus. — Cancer Res., 1966, vol. 20, p. 995—1008.
- Dmochowski L., Grey C. E., Langford P. L. et al. Viral factors in mammary tumorigenesis. Cancerogenesis: a broad critique. — In: 20th annual symposium on fundamental cancer research. — New York, 1966, p. 211—256.
- Dmochowski L. Comparison of leukemogenic and sarcomagenic viruses at the ultrastructural level. — Bibl. Haematol., 1970, vol. 36, p. 62—82.
- Dutta S. K., Gorgaer E. I., Albert T. F., Inghling A. L. Isolation of a herpesvirus from the cell culture of a malignant melanoma of a ground squirrel. (*Spermophilus tridecemlineatus*). — Am. J. Vet. Res., 1977, vol. 38, N 5, p. 591—595.
- Feller W., Chopra H. Virus-like particles in human milk. — Cancer, 1971, vol. 28, p. 1425—1430.
- Fine D., Schochetman G. Type D primate retroviruses: a review. — Cancer Res., 1978, vol. 38, p. 3123—3139.
- Fong C. K. Y., Hsiung G. D. Morphogenic studies of herpesvirus and oncornavirus from leukemic and normal guinea pigs. — Fed. Proc., 1977, vol. 36, N 9, p. 2320—2327.
- Frank H., Schwarz H., Graf Th., Schäfer W. Properties of mouse leukemia virus. XV Electron microscopic studies on the organization of Friend leukemia virus and other mammalian C-type viruses. — Z. Naturforsch., 1978, vol. 33, N 2, p. 124—138.
- Gardner M. B. Search for RNA tumor virus in humans. Origins of human cancer. Book B. Mechanisms of Cancerogenesis/Ed. H. H. Hiatt, J. D. Watson, J. A. Winston. — Cold Spring Harbor Lab., 1977, vol. 4, p. 1235—1251.
- Gelderblom H., Bauer H., Ogura H. et al. Detection of oncornavirus-like particles in HeLa cells: I. Fine structure and comparative morphologic classification. — Int. J. Cancer, 1974, vol. 13, p. 246—253.
- Gilden R. V. Biology of RNA tumor viruses. — In: The molecular biology of animal viruses. — New York—Basel, vol. 1, 1978.
- Green M. Oncogenic viruses.—Ann. Rev. Biochem., 1970, vol. 39, p. 701—756.
- Gross L. Oncogenic viruses.—New York Acad. Press, 1970.
- Gross L., Schidlovsky G. The possible significance of the presence of C-type virus particles in placenta of normal healthy Sprague-Dawley rats. Compar. Leukem. Res. — Bibl. Haemat., 1975, vol. 43, p. 252—254.
- Hamilton R. C., MacGregor A., Pye D. A Marsupial oncovirus? J. Gen. Virol., 1979, vol. 44, p. 535—539.
- Heine U. I., Dalton A. J. Ultrastructural analysis of herpestype viruses.—In: Mol. Stud. Viral. Neoplasia. Collect. Pap.—In: 25th Annual Symposium Fundamental cancer research.—Baltimore, 1974, p. 63—94.
- Heine U. I., Todaro G. J. New type B retrovirus isolate associated with kinetochores and centrioles of the host cell.—J. Gen. Virol., 1976, vol. 39, p. 41—52.
- Huebner R. J. Natural history (Seroepidemiological) studies in the delineation of the viral oncogene hypothesis.—In: Analytic and experimental epidemiology of cancer.—Baltimore: Univ. park. Press, 1973, p. 345—365.
- Jacob R. J., Roizman B. Anatomy of herpes simplex virus DNA VIII. Properties of the replicating DNA.—J. Virol., 1977, vol. 23, N 2, p. 394—411.
- Kalter S. S., Helmke R., Heberling R. et al. C-type particles in normal human placentas.—J. Nat. Canc. Inst., 1973, vol. 50, p. 1081—1084.
- Kiselev N. A., Klug A. The structure of viruses of the papilloma-polyoma type. V. Tubular variants built of pentamers.—J. Mol. Biol., 1969, vol. 40, p. 155—171.
- Kramarsky B., Sarkar N. H., Moore D. H. Ultrastructural comparison of a virus from a rhesus-monkey mammary carcinoma with four oncogenic RNA viruses.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1971, vol. 68, p. 1603—1607.
- Lunger P., Hardy W., Clark H. C-type virus particles in a reptilian tumor.—J. Nat. Canc. Inst., 1974, vol. 52, N 4, p. 1231—1236.
- McAllister R. M., Nicolson M., Gardner M. B. et al. C-type virus released from cultural human rhabdomyosarcoma cells.—Nature (New Biol.), 1972, vol. 235, N 5332, p. 3—6.
- Martin R. G. On the nucleoprotein core of Simian virus 40.—Virology, 1977, vol. 83, p. 433—437.
- Molecular biology of animal viruses/Ed. D. P. Nayak.—New York—Basel, 1978.
- Morgan D. G., Achong G., Epstein M. A. Morphological observations on the replication of Herpesvirus saimiri in monkey kidney cell culture.—J. Gen. Virol., 1976, vol. 32, N 3, p. 461—470.
- Moore D. H. Evidence in favor of the existence of human breast cancer virus.—Cancer Res., 1974, vol. 34, p. 2322—2325.
- Nermut M. V. Structural elements in adenovirus cores. Studies by means of freeze-fracturing and ultrathin sectioning.—Arch. Virol., 1978, vol. 57, p. 323—337.
- Nermut M. V., Frank H., Schäfer W. Properties of mouse leukemia viruses. III. Electron microscopic appearance as revealed after conventional preparation technique as well as freeze-drying and freeze-etching.—Virology, 1972, vol. 49, p. 345—358.
- Okada K., Fujimoto Y., Nakanishi Y. et al. Cohelical arrangement of the DNA strand in the core of Marek's disease virus particles. — Arch. Virol., 1980, vol. 64, N 1, p. 81—85.
- Parks W. P., Gilden R. V., Bykovsky A. F. et al. Mason-Pfizer virus characterization: a similar virus in a human amniotic cell line.—J. Virol., 1973, vol. 12, p. 1540—1547.
- Perk K., Dahlberg J. Morphological evidence for the presence of the endogenous Guinea pig retrovirus in the lymphoblasts of L₂C leukemia.—Experimentia, 1979, vol. 35, N 1, p. 104—105.
- Priori E. S., Ilyin K. V., Dmochowski L. et al. Immunological relationship between an oncornavirus isolate from HEP-2 cells. Mason-Pfizer monkey virus and human tumor cells. — Bibl. Haemat., 1976, vol. 43, p. 488—490.
- Rapp F. The viral etiology of cancer.—Cancer, 1977, vol. 40, p. 419—429.
- Reddy V. B., Thimmappaya B., Dhar R. et al. The genome of simian virus 40.—Science, 1978, vol. 200, N 4341, p. 491—509.
- Roizman B. The herpesviruses.—In: The molecular biology of animal viruses/Ed. D. P. Nayak. vol. 2. New York—Basel, 1978.
- Sarkar N. H., Whittington E. S. Identification of the structural proteins of the murine mammary tumor virus that are serologically related to the antigens of intracytoplasmic type-A particles.—Virology, 1977, vol. 81, N 1, p. 91—106.
- Sarkar N. H., Nowinski R. G., Moore D. H. Helical nucleocapsid structure of the oncogenic ribo-

- nucleic acid viruses (oncornaviruses).—*J. Virol.*, 1971, vol. 8, N 4, p. 564—572.
- Seman G., Dmochowski L.* Viropexis of type B particles in reticulum cell sarcoma of R (III) Dm strain mice.—*Canc. Res.*, 1973, vol. 33, p. 1238—1246.
- Schidlovsky G., Ahmed M.* C-type particles in placenta and fetal tissues of rhesus monkeys.—*J. Nat. Canc. Inst.*, 1973, vol. 51, N 1, p. 225—234.
- Schidlovsky G.* Structure of RNA tumor viruses.—In: *Recent advances in cancer research: cell biology, molecular biology and tumor virology*/Ed. R. C. Giallo.—New York, 1977, vol. 1, p. 190—245.
- Smith G., Heberling R., Helmke R.* et al. Oncornavirus-like particles in squirrel monkey (*Saimiri Sciureus*). Placenta and placenta culture.—*J. Nat. Canc. Inst.*, 1977, vol. 59, N 3, p. 975—979.
- Temin H.* The Protovirus hypothesis: speculations on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and for carcinogenesis.—*J. Nat. Canc. Inst.*, 1971, vol. 46, N 2, p. 212—247.
- Temin H.* RNA viruses and cancer.—*Cancer*, 1977, vol. 39, N 2, p. 422—428.
- Todaro G., Benveniste R., Sherr C.* et al. Isolation and characterization of a new type D retrovirus from the asian primate, *Presbytis obscurus* (spectacled langur).—*Virology*, 1978, vol. 84, N 1, p. 189—194.
- Wold W. S. M., Green M., Buttner W.* Adenoviruses.—In: *The molecular biology of animal viruses*/Ed. D. P. Nayak.—New York-Basel, 1978, p. 2.
- Young S. K., Rowe N. H., Sanderlin K. C.* Herpes simplex virus types 1 and 2 in clinical infections: differences observed by electron microscopy.—*J. Infec. Dis.*, 1977, vol. 135, N 3, p. 486—489.
- Yuen P. H., Wong P. K.* A morphological study on the ultrastructure and assembly of murine leukemia virus using a temperature-sensitive mutant restricted in assembly.—*Virology*, 1977, vol. 80, N 2, p. 260—274.

ФЭМБ
Федеральная электронная
медицинская библиотека

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
I. КЛАССИФИКАЦИЯ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ	8
II. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ	10
III. ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ И МОРФОГЕНЕЗА ОНКОГЕННЫХ РНК-ГЕНОМНЫХ ВИРУСОВ	17
IV. ОНКОВИРУСЫ ТИПА А	37
V. ОНКОВИРУСЫ ТИПА В	53
VI. ОНКОВИРУСЫ ТИПА С	64
VII. ОНКОВИРУСЫ ТИПА D	101
VIII. РЕТРОВИРУСЫ ТИПОВ E, F и G	122
IX. АНОМАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ОНКОГЕННЫХ РНК-ГЕНОМНЫХ ВИРУСОВ	131
X. ПАПОВАВИРУСЫ	179
XI. АДЕНОВИРУСЫ	187
XII. ВИРУСЫ ГРУППЫ ГЕРПЕСА	192
XIII. ВИРУСЫ ГРУППЫ ОСПЫ	200
XIV. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОНКОГЕННЫХ ВИРУСОВ ОТ ДРУГИХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ И ОРГАНОИДОВ КЛЕТОК ЭУКАРИОТОВ	206
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	218
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	220

А. Ф. Быковский, Н. В. Клицунова,
Г. Г. Миллер, В. Б. Мартыненко,
Л. В. Горохова

ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ (атлас)

Зав. редакцией И. А. Сидоров
Редактор Я. А. Парнес
Редактор издательства О. П. Зубарева
Художественный редактор Н. А. Гурова
Технический редактор Н. А. Пошкрёбнева
Корректор З. П. Бабуева

ИБ № 2082

Сдано в набор 12.07.82. Подписано к печати 06.07.83. Формат бумаги 60×84¹/₈.
Бумага мелованная. Гарнитура обыкновенная. Печать высокая. Усл. печ. л. 26,04.
Усл. кр.-отт. 26,04. Уч.-изд. л. 25,70. Тираж 5000 экз. Заказ № 348. Цена 2 р. 60 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», Москва,
Петроверигский пер., 6/8.

Набрано в Московской типографии № 11 Союзполиграфпрома при Государственном
комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли.
Москва, 113105, Нагатинская, 11.

Отпечатано в Московской типографии № 6.

